

University of Groningen

**Milieuverontreiniging en neurodegeneratieve dementie, Een literatuurstudie naar milieuvervuiling als mogelijke risicofactor voor versnelde veroudering en progressieve neurodegeneratieve aandoeningen.**

Honselaar, Chris L.

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2004

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Honselaar, C. L. (2004). *Milieuverontreiniging en neurodegeneratieve dementie, Een literatuurstudie naar milieuvervuiling als mogelijke risicofactor voor versnelde veroudering en progressieve neurodegeneratieve aandoeningen.*

**Copyright**

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

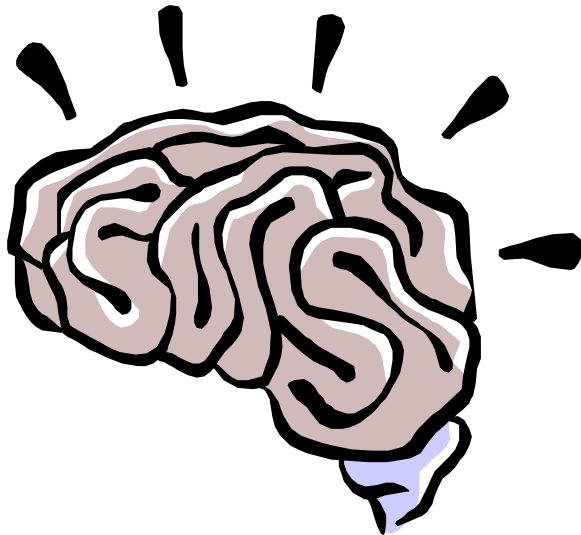
**Take-down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

RuG

ψ  $\vec{E}$   $t'$  & N<sub>2</sub>  
\$ © ℘ Δ % Σ  
ω ⊥ № [k] ë ∠ §



## Milieuverontreiniging en neurodegeneratieve dementie

**Een literatuurstudie naar  
milieuvervuiling als mogelijke  
risicofactor voor versnelde  
veroudering en progressieve  
neurodegeneratieve  
aandoeningen**

**Chris L Honselaar**



Rijksuniversiteit Groningen  
Biologiewinkel Rapport 62  
ISBN 90 367 1821 x

# Milieuverontreiniging en neurodegeneratieve dementie

Een literatuurstudie naar milieuvervuiling als mogelijke  
risicofactor voor versnelde veroudering en progressieve  
neurodegeneratieve aandoeningen

Chris L Honselaar

## **Colofon**

### **Milieuverontreiniging en neurodegeneratieve dementie**

Een literatuurstudie naar milieuvervuiling als mogelijke risicofactor voor versnelde veroudering en progressieve neurodegeneratieve aandoeningen.

**Chris L. Honselaar**

Haren, 2004  
Biologiewinkel Rapport 62  
ISBN 90 367 1821 x

## Voorwoord

In 1998 publiceerde Kay Kilburn, medisch milieukundige en epidemioloog in de Verenigde Staten het boek *Chemical Brain Injury*, waarin hij onder meer stelde, dat het brein het meest gevoelige orgaan is voor chemische belasting vanuit het milieu. Binnen de milieutoxicologie is altijd de meeste aandacht uitgegaan naar kanker als eindpunt voor chronische blootstelling aan milieuverontreiniging. Kilburn ontwikkelde een methodologie voor het testen van neurologische functies, die gevoelig genoeg was voor case control studies, waarin blootgestelden zonder klinische verschijnselen vergeleken konden worden met een controlegroep. Naar aanleiding van zijn bevindingen stelt hij, dat tal van veel voorkomende chemicaliën neurotoxische eigenschappen hebben, en zeer wel in staat zijn om irreversibele schade aan te richten in het centraal zenuwstelsel. Omdat de hersenen zoveel backup systemen kennen, blijft geringe, random schade gewoonlijk onopgemerkt, maar kan, met het ouder worden, aanleiding geven tot versnelde veroudering van lichaam en geest. Immers, veel vormen van verouderingsziekten hangen samen met daaraan voorafgaande achteruitgang van het centraal zenuwstelsel.

Dit boek heeft minder aandacht gekregen dan het mogelijk verdient, omdat de schijnwerpers inmiddels waren gericht op de veelomvattende gevolgen, die chronische blootstelling aan lage concentraties chemicaliën kan hebben voor het nageslacht. Veel van deze stoffen immers, passeren moeiteloos de placenta en kunnen de ontwikkeling van het ongeboren kind verstoren. Bij lage concentraties, in veel industrielanden rondom de achtergrondblootstelling van grote delen van de bevolking, gaat het om subtiele vormen van schade, bijvoorbeeld gedrags- en leerproblemen, verlaagd IQ, verminderde longfunctie, subtiele endocriene effecten. Ook vrezende onderzoekers voor een verhoogde gevoeligheid voor kanker, auto-immuunziekten of andere ziekten die doorgaans pas op latere leeftijd tot uitdrukking komen (o.m. Scale, 2003 a, b, c, d, e).

Met alle aandacht voor de uiterst gevoelige groep van ongeboren en jonggeboren kinderen, verdwijnen andere gevoelige groepen soms een beetje uit beeld. Een belangrijke gevoelige groep wordt, in een vergrijzende samenleving, gevormd door ouderen. Dezelfde stoffen, die via de placenta het ongeboren kind binnenkomen, passeren met evenveel gemak de bloed-hersenbarrière bij volwassenen. Met het ouder worden neemt de vatbaarheid voor chronische vergiftiging bovendien toe, omdat allerlei verdedigings- en reparatiesystemen in effectiviteit verminderen. Zo vermindert de activiteit van het immuunsysteem en wordt de doorlaatbaarheid van de bloed-hersenbarrière groter. De Stichting Meldpunten Netwerk Gezondheid en Milieu verzamelt milieugerelateerde gezondheidsklachten van burgers. De leeftijdsgroep 50 jaar en ouder meldt de meeste klachten, niet zelden in situaties, waar geen sprake is van overschrijding van toxicologische drempelwaarden. Begrijpelijk is het Meldpunten Netwerk wel geïnteresseerd in het werk van Kilburn, mede in het kader van hun speerpunt "Gevoelige Groepen." Zij hebben behoefte aan achtergrondinformatie over milieugerelateerde ziekteprocessen.

Chris Honselaar heeft dit rapport geschreven als doctoraalscriptie medische biologie, onder begeleiding van Prof dr Paul Luiten (BCN Hersenen en Gedrag) en Dr Maureen Butter (coördinator Biologiewinkel), die ook de eindredactie heeft gedaan. Die is in dit geval beperkt gebleven tot kleinigheden en enkele aanvullingen met betrekking tot het EU-beleid chemische stoffen.

Haren, 6 februari 2004  
Maureen Butter



## Summary

Modern society is witnessing a rapidly increasing gap between production of chemical substances on the one hand, and our knowledge about their health effects on the other. An especially alarming form of chemical pollution consists of neurotoxins, since there are indications that members of this group may contribute to the development of neurodegenerative pathology. This report attempts to provide insight into the current state of knowledge regarding possible relations between neurotoxins and cumulative brain damage, as observed in dementing disorders. For this purpose the pathological mechanisms, that are thought to play an important role in the development of dementia, are reviewed, and the question to what extent exogenous factors such as chemical pollution could incite these mechanisms.

### Senescence of the brain does not automatically imply senility

The brain goes through many physiological and histopathological changes with progressing age. The general viewpoint is that cognitive function declines inevitably during the aging process, and that older adults gradually become "senile". However, this notion is not supported by clinical data. A large proportion of the observed cognitive decline, attributed to age, may in fact be symptomatic for a very mild form of dementia. Many pathological processes are not unique to one type of dementia, and a number of them is found, with a comparable distribution, to accompany the normal aging process. The classification of neurodegenerative syndromes is currently based mostly on differences between pathophysiological processes of which the exact causal mechanisms are often not yet known. The diversity of associated mechanisms implies combinations of risk factors that may play a role in the development of these disorders. One consistently found risk factor for many types of dementia is age, and international prevalence data also reveal a clear trend of increasing probability of developing dementia with progressing age. Toxic exposure as a risk factor for dementia has received relatively little attention.

### Alzheimer and other forms of dementia

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia. Medical consensus is that the characteristic symptoms of AD consist of a gradual onset and progression of memory loss and other cognitive functions. The density of neuritic plaques, extracellular aggregations primarily composed of a fibrillary form of the protein  $\beta$ -amyloid, currently is the most important criterion in the neuropathological diagnosis of AD. Quantitative correlations have been found between the extent and number of plaques found, and the degree of cognitive disorder in AD patients.

After Alzheimer, dementia with Lewy bodies is the most common type of dementia. Parkinson-type dementia is neuropathologically characterized by the presence of Lewy bodies and neuron loss in the substantia nigra. The protein  $\alpha$ -synuclein probably has an important role in the pathogenesis of disorders with Lewy bodies.

Cerebrovascular pathology, primarily in the form of cerebral infarcts, is a common finding in the elderly. Cumulative damage from many small-scale infarcts and vascular trauma, in multiple cortical structures, can result in cerebral dysfunction. If no important indications of the occurrence of Alzheimer-type lesions are found, this dysfunction is frequently categorized as vascular dementia.

### Molecular processes

Pathological and genetic research has uncovered a multitude of neuromolecular processes that are suspected to play a role in the expression of dementing disorders.

There are indications for an important role of **oxidative stress**, damage caused by free radicals in tissues, in many neurodegenerative processes. Exogenous sources for increased oxidative stress include pollution, radiation and toxins. Recent research suggests that the capacity for recovery from oxidative stress decreases with increasing age.



Many studies implicate  **$\beta$ -amyloid** as a central factor in Alzheimer-type pathology. A hypothesis is that the aggregation of  $\beta$ -amyloid causes an inflammatory response, which then leads to neuritic damage, hyperphosphorylation of tau protein and formation of neurofibrillary tangles, eventually resulting in neuronal dysfunction and cell death. Indications have been found that relatively low concentrations of nonfibrillary  $\beta$ -amyloid can have cytotoxic effects. According to another hypothesis,  $\beta$ -amyloid is able to form cation-selective channels following integration into the cell membrane, thus disrupting the cellular calcium homeostasis, which ultimately causes induction of cell death mechanisms. The observation that  $\beta$ -amyloid is capable of increasing the glutamate-uptake capacity of astrocytes, has given rise to speculations that  $\beta$ -amyloid drastically inhibits the glutamatergic synaptic response of neurons in this way, resulting in failure of synaptic activity. A possible relation between  $\beta$ -amyloid and increased oxidative stress has been found with the observation that  $\beta$ -amyloid can participate in a reaction which forms free radicals. This reaction is catalyzed by transition metals like aluminum and iron. Oxidative stress is also associated with the cholinergic pathology that is found in AD. Another neurodegenerative process that has been observed in association with  $\beta$ -amyloid, is a genotoxic effect in preneuronal cells. A **tauopathy** is defined by accumulations of the protein tau in the cytoplasm of neurons and glial cells, such as the neurofibrillary tangles found in Alzheimer-type dementia. Accumulation in insoluble aggregates is initiated by hyperphosphorylation of tau protein. Increased expression of the gene coding for tau may contribute to the susceptibility for such accumulations. Toxic induction of increased tau expression is implicated as a cause of Guam-type dementia. Endogenous glutamate may also modulate the expression of tau.

Aggregation of **prion-, tau-, amyloid or  $\alpha$ -synuclein proteins** in densely packed filamentous networks is a characteristic feature of most age-related neurodegenerative disorders. All these forms of protein deposition in some way seem to involve glycosaminoglycans, which probably have a role in the accumulation as well as in the polymerization of the proteins. Also glycosaminoglycans are thought to have a protective function against toxic activity. Research has indicated that the pathological aggregation associated with  $\beta$ -amyloid and prion proteins can be induced exogenously.

**Excitotoxins** are biochemical substances, capable of engaging in a reaction with the glutamate receptors of neurons, leading to hyperexcitation and possible damage or death of the neuron. Indications have been found for selective loss of neurons by excitotoxic mechanisms in a range of neurodegenerative disorders. Additionally it appears that excitatory amino acids play a role in the causation of posttraumatic neurodegenerative damage. Increased oxidative stress is implicated as an age-related factor that may contribute to neurotoxic cascades, leading to excessive secretion of excitatory amino acids.

There is increasing evidence for the hypothesis that **inflammation in the brain** is a central factor in the pathogenesis of multiple neurodegenerative disorders. Examples of inflammation inducing processes are: hyperactivation by glutamate, mitochondrial dysfunction, and activation of the microglia by  $\beta$ -amyloid, neuritic plaques and other neurofibrillary accumulations.

Decreased blood flow to the brain and damage to the microvascular integrity of cortical regions are disorders that can contribute significantly to the chain of neurodegenerative processes. In a recent study an association was also found between vascular dementia and markers for inflammatory processes.

**Damage to DNA** or other important cellular targets caused by **toxic chemicals or trauma**, has been identified as a possible important promoter of cell death mechanisms. With the aging process the regulation of cell death mechanisms can decline, possibly increasing the vulnerability to (geno)toxic factors, and facilitating progressive damage processes. Many forms of chemical pollution are associated with genotoxic effects, and a possible relation between genotoxins and neurodegenerative pathology has been proposed by some researchers.

## Toxic exposure

The primary medium of toxic exposure is air pollution. Accumulation in groundwater, and distribution through it, burdens the environment with increasing amounts of heavy metals and persistent organic substances that continue to circulate long after the original use. Chemicals in

household products, insecticides and cosmetics represent a somewhat less obvious, but potentially important, source of toxic exposure. The principal route through which environmental chemicals can penetrate to the brain, is provided by the lungs. Diffusion of toxins to brain tissue is inhibited by the blood-brain barrier. In some parts of the brain, notably the plexus choroidus, parts of the hypothalamus and the hypophysis, the blood-brain barrier is not present. Additionally, leakage of chemicals through the barrier can occur because of abnormalities in metabolism or blood pressure regulation, pathological processes, or possibly by specific toxins affecting the barrier integrity. Direct transduction of chemicals through the olfactory epithelium constitutes a possibility for certain toxins to penetrate to the bulbus olfactorius, and from there to gain access to the limbic system and neural tissue fluid.

### **Research is severely limited**

Experimental determination of causal relations between exposure to chemicals and the development of neurodegenerative pathology is only indirectly possible because of ethical and practical limitations. The only opportunity for studying such toxic health effects in humans is inadvertent exposure during environmental or occupational incidents, the domain of epidemiology. The most accurate results may be obtained when exposure data and health records of the involved persons exist from time periods preceding the incident. Prospective studies are designed to acquire such control data by performing regular observations at a time when there is no known exposure. If these data are not available, exposure levels have to be either inferred by using biomarker assessment, or estimated. Estimations generally have to be made on the basis of relatively inaccurate sources, such as the memory of the exposed person, or extrapolation of exposure levels from measurements taken after the incident. The major remaining alternatives for toxic effect-research are the use of laboratory animals, and in-vitro studies. The fundamental advantage of these methods is the flexibility as regards the experimental parameters and research design. However, extrapolation of causal and dose-response relations to the human physiology is generally complicated and hazardous. This seems to especially apply to in-vitro research.

### **Chemicals implicated in neurodegenerative pathology**

**Aluminium** has received broad attention because of the suspicion that exposure to this metal might contribute to the development of AD. The element occurs widely in food and drinking water. Correlations between aluminium in surface or drinking water and dementia, have been found in multiple studies. Declined results in cognitive function tests were found in mining workers who used a prophylactic medicine containing aluminium. Aluminium solution used in dialysis fluid for uraemic patients has in more than one study been indicated as the cause of a severe form of encephalopathy. Aluminium containing intravenous solutions used with infants are associated with damaging effects to neurological development.

Different neurotoxic mechanisms in reaction to aluminium exposure have been implicated. Increased oxidative stress activity of iron in the presence of aluminium has been demonstrated, in-vitro as well as in-vivo. An inflammatory effect of aluminium has also been found in different tissues. Additionally, in-vitro studies suggest that aluminium may exert a facilitating effect on the aggregation of  $\beta$ -amyloid, tau protein and  $\alpha$ -synuclein.

**Mercury** and inorganic mercury compounds are applied in electric apparatuses, cosmetics, color additives and medical products among others, and organic mercury compounds have been found in pesticides and disinfectants. Exposure to mercury leads to accumulation in the body. The elemental form of mercury, as well as lipid-soluble methyl compounds of it, are capable of diffusing through the blood-brain barrier.

The use of mercury amalgams in dental fillings has been shown to lead to increase of mercury levels in the body. A few studies implicate the use of mercury amalgam fillings as a risk factor for

AD, but these results are regarded as controversial. A study of mercury levels in cadavers revealed an increased mercury concentration in parts of brains with AD-pathology. A possible neurodegenerative mechanism of mercury has been found with the observation that long-term exposure of rats to mercury vapor can lead to increased degeneration of microtubuli in neurons, and possibly also to facilitation of neurofibrillary aggregation and modification of neuronal growth patterns. A relation between exposure to an inorganic mercury compound and increased amyloid- $\beta$  secretion as well as tau phosphorylation was established in in-vitro research.

**Pesticides** are among the most widely distributed neurotoxins in the environment, and the extent of exposed risk groups, predominantly in industrial production and agriculture, is enormous. To the group of pesticides belong certain organophosphates, which may cause cholinergic disorders. In multiple epidemiological studies a correlation was found between exposure to pesticides and development of dementia of Parkinson's type. Possibly supporting a causal relation is the observation of specific degeneration of dopaminergic neurons in mice exposed to a herbicide. Additionally, an increase in the concentration of pesticides in the brain of Parkinson patients was found in several studies.

In animal studies pesticides have been associated with defects in the mitochondrial complex I that caused symptoms of Parkinson's disease, probably by means of increased oxidative stress and excitotoxic cell death. The primary neurotoxic mechanism of organophosphate compounds is probably the inhibition of acetylcholinesterase, which through accumulation of acetylcholine in the synapses can inflict damage to the cholinergic receptors.

**Lead** contamination of soil and water constitutes an environmental problem of large and still increasing proportions. Both organic and inorganic lead compounds are absorbed in plants, and so can circulate in the food chain. Other potential sources of exposure originate through the use of lead in solder, paint, food cans, and, in regions where regulation is not yet in place, in fuels. Lead exposure can influence all parts of the nervous system. Indications have been found that lead exposure during youth may lead to encephalopathy and symptoms of Alzheimer-type dementia. Epidemiological research has found correlations between lead exposure and several dementia-subtypes, among which amyotrophic lateral sclerosis. However, a number of research attempts performed in Norway and the US in order to verify this, could not establish a clearly increased risk.

Inhibition of several enzymes through inorganic lead has been evidenced, and it has been suggested as a possible factor in neurodegenerative disorders where a disturbed glucose metabolism is present, such as in sporadic AD. There are also indications that lead exposure has an excitotoxic effect, and the hypothesis has been proposed that interaction between lead and neuronal proteins can cause inflammatory responses.

**Manganese** is applied as, among others, a fuel additive, in metal construction, the clothing industry, medical products, paint, fertilizer and glass. Manganese is found naturally in many food products. Especially atmospheric pollution and contamination of drinking water through industrial drainage constitute exposure risks.

The primary effect of manganese toxicity probably consists of irreversible damage to the central nervous system. Indications for a relation between symptoms of Parkinson and manganese exposure have been reported in several studies, both clinically and in animal experiments. Exposure of astrocytes to manganese has been found to elicit differentiation into stellate cells, reduction of DNA synthesis, expression of GFAP proteins, decreased energy production and antioxidant capacity, lower activity of glutamate transporters, increased expression of glutamin synthetase and cytokinetic factors, and increase of oxidative potential. A facilitating effect on the formation of  $\alpha$ -synuclein fibrils was found in an in-vitro study, providing a possible link between manganese exposure and disorders involving Lewy bodies.

**Organic solvents** are widely used in industrial applications, such as the production of polymers, synthetic fabrics, pharmaceuticals and paint. Because of their high volatility, organic solvents are capable of penetrating skin and lung tissue, and through their lipophilic character the blood-brain

barrier can be crossed. Exposure risks may be higher where solvents are used, but also through voluntary intake with chemical addiction.

Chronic toxic encephalopathy is the principal syndrome of neurodegenerative damage associated with organic solvents. In an epidemiological study on workers a significant correlation has been found between exposure to organic solvents, and lower results on neurobehavioral tests.

However, several other studies failed to establish a relation between solvent exposure and encephalopathy or dementia, and other factors have been suggested for the observed symptoms. There appears, however, to be a large diversity in the diagnostic criteria that are applied to chronic encephalopathy.

In animal research various biochemical effects of exposure to different organic solvents are observed. Changes in neurotransmitter concentrations and protein production in glial cells, as well as structural damage to the central nervous system, have been found after toluene exposure. Xylene is likewise associated with changes in glial protein production, in addition to reduction in acetylcholinesterase activity and changes in dopamine levels. The chronic toxic effects of trichloroethylene have been ascribed to free radical damage and effects of metabolites. Consequences of long-term alcohol abuse can include thiamin-deficiency, which may cause structural damage to the central nervous system.

### **Conclusion: many indications for environmental risk factors**

In conclusion there are many indications for biochemical interactions between toxins and neurodegenerative damage processes. It is, therefore, plausible that they constitute an additional risk factor for dementia and accelerated aging effects. Factors such as oxidative stress, excitotoxicity and inflammation, all very general mechanisms, are thought to play a role in the development of several forms of dementia, and mediate many toxic effects.

However, establishing a direct causal relation is problematic, on the one hand because of practical limitations in epidemiological research and extrapolation of results gained from animal- and in-vitro-studies, on the other because of the large variety in individual expression of toxic effects and lack of accurate methods for detecting exposure and neurodegenerative pathology in-vivo. More consensus and cooperation in epidemiological research will in the future hopefully compensate to some extent for these limitations. Prospective longitudinal research especially can yield valuable data, since it has a larger chance of correlating health effects directly to exposure data. The development of a large battery of biomarkers for toxic exposure and health effects will be extremely helpful for this purpose, as it provides the possibility of more rapidly and accurately establishing dose-response relations.



## INHOUDSOPGAVE

Colofon.....	2
Voorwoord .....	3
Summary.....	5
Senescence of the brain does not automatically imply senility .....	5
Alzheimer and other forms of dementia .....	5
Molecular processes .....	5
Toxic exposure.....	6
Research is severely limited.....	7
Chemicals implicated in neurodegenerative pathology.....	7
Conclusion: many indications for environmental risk factors.....	9
1 1. Inleiding .....	13
1.1 Chemische stoffen in de omgeving .....	13
1.2 Dementie .....	14
1.3 Blootstelling aan neurotoxinen in werkomgeving en milieu .....	15
1.3.1 Woonomgeving en milieu.....	16
1.3.2 Dosis en effect.....	16
1.3.3 Conclusies van de Europese milieu instantie.....	16
1.4 Neurotoxinen en dementie? .....	17
1.4.1 Veroudering, trauma en dementie .....	17
1.5 Opbouw van het rapport .....	18
2 Neurodegeneratieve dementie .....	19
2.1 Veroudering en het brein.....	19
2.1.1 Neuronverlies .....	19
2.1.2 Plaques .....	19
2.1.3 Cerebrovasculaire pathologie.....	19
2.1.4 Insluitsels in het cytoplasma.....	19
2.1.5 Witte materie .....	20
2.1.6 Overige leeftijdsgerelateerde neuropathologiën.....	20
2.2 Genetische degeneratie en verandering van genexpressie.....	20
2.2.1 Genexpressie .....	21
2.3 Gegeneraliseerde hersenschade .....	21
3 Etiologie van AD en non-AD dementie .....	23
3.1 Alzheimer-type Dementie.....	25
3.1.1 Macroscopische veranderingen .....	26
3.1.2 Microscopische veranderingen.....	26
3.1.3 Neurale plaques .....	26
3.1.4 Neurofibrillaire tangles .....	27
3.1.5 Neurodegeneratie en synaptisch verlies.....	28
3.1.6 Ontwikkelingsstadia .....	28
3.2 Non-Alzheimer Dementie.....	28
3.2.1 Lewy lichaampjes en dementie .....	28
3.2.1.1 Parkinson .....	28
3.2.1.2 Dementie met Lewy lichaampjes.....	29
3.2.2 Cerebrovasculaire dementie .....	29
3.2.3 De ziekte van Pick.....	30
3.3 Pathofysiologische mechanismen.....	30
3.3.1 $\beta$ -amyloid.....	30
3.3.1.1 $\beta$ -amyloid metabolisme .....	30
3.3.1.2 $\beta$ -amyloid pathologie.....	32
3.3.2 Apolipoproteïne E .....	33
3.3.3 Tau eiwit en tauopathie .....	33
3.3.4 Proteïne aggregatie .....	34
3.3.5 Excitotoxiciteit.....	34
3.3.6 Ontsteking en activatie van microglia .....	35
3.3.7 Vasculaire schade en veranderde bloedtoevoer.....	35

3.3.8	Oxidatieve stress .....	36
3.3.9	Opening van ionkanalen .....	37
3.3.10	Inductie van apoptose .....	37
3.3.11	Aantasting van de bloed-hersenbarrière .....	39
3.3.12	Cholinerge deficiëntie .....	39
3.3.13	Discussie .....	39
3.4	Heterogeniteit en overlap van ziektebeelden .....	41
3.4.1	Risicofactoren .....	42
4	Neurotoxinen in de omgeving .....	45
4.1	Blootstellingspatronen .....	45
4.2	Verspreiding van chemicaliën in de Europese omgeving .....	45
4.3	Toegangswegen naar het brein .....	45
4.3.1	Bloed-hersenbarrière .....	46
4.3.2	Reukzenuw .....	46
5	Onderzoek naar interactie van neurotoxinen met neurodegeneratieve pathologie – concepten en methodes .....	47
5.1	Risico-inschatting .....	47
5.1.1	Advieswaarden .....	48
5.1.2	Responsmetingen .....	48
5.2	Epidemiologisch onderzoek .....	49
5.2.1	Case-control studies .....	49
5.2.2	Cohort studies .....	49
5.2.3	Transversale studies .....	49
5.3	Dierexperimenten en in-vitro onderzoek .....	49
5.4	Discussie .....	50
6	Onderzoek naar interactie van neurotoxinen met neurodegeneratieve pathologie – resultaten .....	51
6.1	Internationale prevalentie van neurodegeneratieve aandoeningen .....	51
6.2	Neurotoxinen en implicaties in neurodegeneratieve aandoeningen .....	52
6.2.1	Aluminium .....	52
6.2.1.1	Epidemiologische studies .....	53
6.2.1.2	Fysiologische studies .....	53
6.2.1.3	Toxische mechanismen .....	53
6.2.2	Kwik .....	54
6.2.2.1	Epidemiologische/fysiologische studies .....	54
6.2.2.2	Toxische mechanismen .....	55
6.2.3	Pesticiden .....	55
6.2.3.1	Epidemiologische/fysiologische studies .....	55
6.2.3.2	Toxische mechanismen .....	55
6.2.4	Lood .....	56
6.2.4.1	Epidemiologische/fysiologische studies .....	56
6.2.4.2	Toxische mechanismen .....	57
6.2.5	Mangaan .....	57
6.2.5.1	Epidemiologische/fysiologische studies .....	57
6.2.5.2	Toxische mechanismen .....	57
6.2.6	Organische oplosmiddelen .....	58
6.2.6.1	Epidemiologische/fysiologische studies .....	58
6.2.6.2	Toxische mechanismen .....	59
6.2.7	Genotoxinen .....	59
7	Discussie .....	61
7.1	Overzicht .....	61
7.2	Bruikbaarheid van onderzoeksresultaten .....	61
7.3	Perspectieven in epidemiologisch onderzoek .....	62
7.4	Perspectieven in risk assessment en preventie .....	62
7.5	Tot slot .....	63
7.6	Aanbevelingen .....	63
8	Referenties .....	65

# 1. Inleiding

Neurotoxinen, stoffen met een breed spectrum aan versturende en degeneratieve gevolgen voor het brein, vormen een toenemende bedreiging voor de mens in zowel industriële als ontwikkelingslanden. Het bewijs voor chemische gevaren voor mensen is groeiende, vooral voor neurotoxinen, endocriene verstoringfactoren, verschillende vormen van kanker en allergieën. Ook het bewijs voor toenemende verstoring van fauna en ecosystemen als gevolg van blootstelling in zelfs lage doses neemt toe.

Elke dag worden honderdduizenden Nederlanders blootgesteld aan neurotoxinen. Op het werk bijvoorbeeld, door blootstelling aan organische oplosmiddelen, lood en pesticiden. Of thuis, via emissies uit bouwmaterialen, stoffering, meubilair, of lokale bronnen van luchtvervuiling. Industriële chemicaliën zijn wijdverspreid in de lucht, grond, water, sediment en biota van het Europese milieu, ten gevolge van gebruik en degradatie van tot 100.000 chemicaliën in de EU (EEA, 1997). Er is gebrek aan toezicht op en informatie over deze chemicaliën, en de concentraties en milieuverspreiding ervan. Hoewel er succes is geboekt in de reductie van een flink aantal specifieke milieubelastende stoffen, is het onmogelijk vast te stellen, wat de gezamenlijke achtergrondbelasting is van alle door toedoen van de mens in het milieu verspreide stoffen en hun afbraakproducten is. Aangezien van een groot aantal van deze stoffen niet bekend is, wat chronische blootstelling aan lage concentraties voor gezondheidseffecten kan hebben, valt nog minder te zeggen over de risico's van deze achtergrondbelasting. Het is ondoenlijk, om alle stoffen grondig te evalueren op mogelijke gezondheidseffecten, maar er is inmiddels EU-wetgeving in de maak om dat in ieder geval te doen voor nieuwe stoffen, welke in grote hoeveelheden per jaar geproduceerd gaan worden (Europese Commissie, 2003; RPA/ BRE Environment, 2003). In dit rapport kijken we naar de ziektemechanismen van een aantal neurodegeneratieve ziekten en de mogelijke rol, die chemische belasting daarbij kan spelen. Hierbij beperken wij ons tot ziekteprocessen, die zich in het centraal zenuwstelsel van volwassen patiënten afspelen. Predispositie door vroege blootstelling, bijvoorbeeld voor de geboorte of in de vroege kindertijd, is in dit literatuuronderzoek niet meegenomen.

## 1.1 Chemische stoffen in de omgeving

EU richtlijn 67/548/EEC regelt veiligheidseisen voor stoffen, die na 1981 op de markt zijn gebracht. Het gaat om een set basisgegevens, die van iedere stof bekend moet zijn, die binnen de EU verhandeld mag worden. Wanneer de stof in volumes boven de 10 kg/ jaar wordt geproduceerd, zijn additionele veiligheidstests vereist met betrekking tot lange termijn effecten. Hoe groter het productievolume, hoe strenger de eisen. Sinds het van kracht worden van deze richtlijn, zijn er zo'n 3000 nieuwe stoffen op de markt gekomen. Voor de circa 100.000 chemische stoffen, die voor 1981 reeds op de markt waren, geldt die verplichting niet. Ongeveer 30.000 stoffen worden in de EU geproduceerd of geïmporteerd in hoeveelheden van meer dan een ton per jaar. Zij vallen onder de richtlijn voor bestaande stoffen richtlijn 793/93/EEC. Testen, risico-analyse en risicobeheersing zijn volgens deze richtlijn alleen vereist voor stoffen, die 'aanleiding geven tot zorg'. De richtlijn heeft 141 stoffen geprioriteerd voor risico-analyse en risicomanagement (Europese Commissie, 2003, RPA/ BRE Environment, 2003)..

In 2003 bestond de richtlijn 10 jaar. In die tijd zijn voor 96 van de 141 stoffen concept risico-analyses opgesteld, en over 64 stoffen zijn besluiten genomen. Voor de overige 45 stoffen van de lijst loopt het onderzoek nog. Van het overgrote deel van de 30.000 chemicaliën, die in grote volumes in de EU geproduceerd of geïmporteerd worden, zijn slechts summiere gegevens voorhanden. Van de producenten/ importeurs van deze stoffen wordt verwacht, dat zij zich 'binnen redelijke grenzen' inspannen om bestaande risicoinformatie van de betreffende stoffen te verzamelen. Is de informatie niet beschikbaar, dan zijn zij niet gehouden om middels eigen onderzoek daar alsnog in te voorzien.

Het EU Bureau Chemische Stoffen heeft in 1999 onderzocht, welke data er beschikbaar waren voor circa 2500 HPV (=High Production Volumen) chemicaliën. Daaruit kwam naar voren, dat



van slechts 22% van deze stoffen basisgegevens waren met betrekking tot de menselijke gezondheid, en van slechts 12% uitvoerige toxicologische informatie. Van 14% was er informatie over zowel gezondheids- als milieu-eindpunten. Slechts 3% had volledige informatie over alle gebruikelijke toxicologische en milieu-eindpunten. Ook in de VS is dergelijk onderzoek uitgevoerd. Van 43% van de 2800 onderzochte stoffen was in het geheel niets te vinden in openbare bronnen. Een volledige dataset was slechts beschikbaar voor 8%.

In Denemarken zijn in 2001 47000 geregistreerde organische stoffen gescreend met behulp van QSAR (een analyse, gebaseerd op moleculaire structuur). Op basis van deze analyse zou zo'n 44% van deze stoffen één of meerdere risico's voor mens of milieu kunnen vormen. Tevens werd voorspeld, dat van de 100.000 stoffen op de markt zo'n 2% ofwel zou voldoen aan de kwalificatie PBT (Persistent, Bio-accumulative and Toxic) of wel aan vPvB (very Persistent, very Bioaccumulative), beiden categorieën van zeer ernstige zorg. (RPA/ BRE Environment, 2003)<sup>1</sup>. Dit betekent, dat een belangrijk deel van de Europese bevolking zal zijn blootgesteld aan chemicaliën waarvan het vermogen om schade aan het zenuwstelsel aan te richten onbekend is. Het is daarom niet uitgesloten dat een bepaalde fractie van neurologische ziektegevallen in de Europese populatie te wijten is aan blootstelling aan onbekende neurotoxinen. Hoewel het aantonen van directe causale verbanden tussen stoffen en gezondheidsproblemen een gecompliceerd proces is, bestaan er aanwijzingen voor neurotoxische effecten bij een reeks van substanties, waaronder veel voorkomende vormen van luchtverontreiniging en achtergrondbelasting (Kilburn, 1998a; EEA, 1997).

Onderzoek naar aanleiding van incidentele of langdurige blootstelling aan chemicaliën uit de omgeving heeft herhaaldelijk aangetoond dat dit kan leiden tot chronische neurologische ziekte. Een voorbeeld is blootstelling aan te hoge mangaanconcentraties in mijnwerkers, die een syndroom ontwikkelden dat overeenkomsten vertoont met de ziekte van Parkinson (Albin RL, 2000). Een soortgelijk syndroom is beschreven in jonge volwassenen die MPTP (een synthetisch heroïne substituuut) gebruikten. Chronische blootstelling hieraan kan onomkeerbare achteruitgang in intelligentie en leercapaciteit veroorzaken, alsook gedragsproblemen (Albin RL, 2000). Langdurige blootstelling aan sommige oplosmiddelen kan tot dementie leiden. Men kan zich afvragen, wat de bijdrage van chemische belasting uit de omgeving is aan de huidige ziektelast van neurodegeneratieve aandoeningen.

## 1.2 Dementie

**Dementie** is een syndroom, de aanduiding voor een gerelateerde set van symptomen. Het wordt gekarakteriseerd door achteruitgang van een aantal mentale functies. Taal, geheugen, redeneer- en waarnemingsvermogen worden aangetast en nemen langzamerhand steeds verder af. De patiënt verliest zijn zelfstandigheid en wordt afhankelijk van de hulp van anderen. Naarmate zijn geheugen afneemt, wordt contact met de omgeving, bekenden en familie bemoeilijkt. Uiteindelijk verliest hij het vermogen om taal te gebruiken of te begrijpen. Stemningswisselingen en depressie begeleiden de achteruitgang. Over het algemeen is de dementiepatiënt zich in het beginstadium bewust van het proces, maar ook dit verdwijnt in een vergevorderd stadium. Incontinentie en invaliditeit volgen meestal bij het voortschrijden van de ziekte, waarna de verzwakte patiënt uiteindelijk overlijdt, doorgaans vele jaren eerder dan leeftijdsgenoten zonder dementie.

Het syndroom treft verschillende bevolkingslagen, maar vooral zeer oude mensen. In Nederland lijden iets meer dan 10.000 mensen onder de 60 jaar aan dementie. Geschat wordt dat in totaal ongeveer 250.000 mensen aan een vorm van dementie lijden (Gezondheidsraad, 2002a).

40% van alle 90-jarigen en ouder lijdt aan dementie. Extrapolatie van de huidige prevalentiegegevens schetst een toekomstbeeld waar het aantal klinisch gediagnosticeerde dementiepatiënten oploopt van de huidige 175.000 tot 207.000 in 2010. Bij gelijke omstandigheden, en bij uitblijven van effectieve preventie en genezingsmethoden, zal het aantal

---

<sup>1</sup> Stoffen, die zowel persistent als bioaccumulatief zijn zijn over het algemeen sterk lipofiel en passeren moeiteloos de bloed-hersenbarrière. Daarnaast bestaan er nog tal van neurotoxische stoffen die niet binnen de PBT of vPvB categorieën vallen.

naar verwachting oplopen tot 412.000 in 2050. Omdat het ziektebeeld in een vroeg stadium meestal niet uniek te identificeren is, zijn er vele onopgemerkte dementiepatiënten zonder diagnose (Gezondheidsraad, 2002a). Toenemende vergrijzing betekent dat de relatieve prevalentie van dementie zal stijgen, en de beschikbaarheid van verzorgers zal afnemen. Dementiepatiënten worden in hun dagelijks leven steeds afhankelijker van hulp van anderen. Ongeveer 3 op de 10 patiënten woont in een verzorgingshuis of verpleeghuis. De overgrote meerderheid woont thuis. Nu al heeft meer dan een miljoen mensen te maken met dementie in de familie of hun naaste omgeving. Een zorg die jaren achtereen, soms 24 uur per dag, wordt volgehouden, en een zware tol kan eisen op zowel emotioneel vlak als gezondheid.

De grote aanslag die dementie vormt op het leven van patiënten en hun families benadrukt het belang van inspanningen voor herkenning, eventuele preventie en behandeling van de aandoening. Ook in economisch opzicht zijn de gevolgen groot. De geschatte kosten in de Verenigde Staten van het evalueren van een persoon met dementie liggen tussen \$1000 en \$1500, en klinische opname kost voor elk geval per jaar \$40,000. Over het jaar 2000 leverde dit een totale raming van \$412 miljard (Petersen RC, 2000).

### 1.3 Blootstelling aan neurotoxinen in werkomgeving en milieu

De meest gebruikte definitie van “blootstelling” aan gifstoffen ('toxinen') is de inname, inademing of huidabsorptie van chemicaliën in voedsel, drinkwater, lucht, oppervlaktewater of grond. Een individu wordt geacht risico te lopen, of potentieel blootgesteld te zijn als er een giftige stof aanwezig is, maar er geen bewijs van inname is gevonden. Aantasting van het zenuwstelsel als gevolg van blootstelling in werkomgeving of milieu kan onopgemerkt blijven tot de gevolgen en symptomen significante vermindering van werkzaamheden veroorzaken, of erger.

Neurotoxinen zijn chemicaliën in staat tot het aantasten van de integriteit van zenuwcelmembranen, het beïnvloeden van neuronale excitabiliteit, transmittersystemen, en synaptische activiteit in de perifere en centrale zenuwstelsels; neurotoxische factoren kunnen ook het axo-plasmatische transport verstoren, neurologische functies indirect beïnvloeden door toxische effecten op de Schwann cellen en het perifere myeline. Beschadigingen kunnen ook aangericht worden in het centraal myeline, oligodendroglia-cellen, en andere ondersteunende elementen waaronder astrocyten en microglia. Bovendien zijn enkele neurotoxinen in staat het extracellulaire vloeistofvolume en stroming te verstoren, door het endothelium van de capillairen aan te tasten (Spencer, 2000).

Er is een toenemend bewustzijn van de effecten van chemische blootstelling als een belangrijke bedreiging voor de volksgezondheid. Ondanks de schaarste aan kennis over de effecten van de vele commercieel toegepaste chemicaliën, is bij velen ervan een verband gelegd met neurotoxische effecten in dieren en mensen.

De bewijslast voor de risico's voor mens en ecosysteem van een stof, of bepaalde toepassingen van die stof, ligt onder de huidige wetgeving grotendeels en soms geheel bij de overheid die hier onvoldoende invulling aan kan geven (Ministerraad, 2001, RPA/ BRE Environment 2003).

Wegens de hoge kosten is de motivatie vanuit industrie en bedrijfsleven om pro-actief mogelijke neurotoxinen te identificeren waarschijnlijk laag. De onderzoeken waarin chemische blootstelling is vastgesteld als oorzaak van neurologische effecten, vinden meestal plaats naar aanleiding van blootstelling aan hoge doses, met direct waarneembare respons. De algemene schattingen van neurotoxische effecten zijn hierdoor waarschijnlijk laag. Lagere doses kunnen leiden tot minder opvallende neurologische verstoringen en aandoeningen, zonder dat het verband gelegd wordt. Ook onnauwkeurigheid in klinische diagnose van de gevolgen van blootstelling kan onderschattingen van neurotoxische risico's veroorzaken.

Systematische studie van lage dosis-blootstellingssituaties zal vrijwel zeker additionele neurotoxinen, en de effecten ervan, identificeren.

Gezondheidsvoorschriften en protocollen voor werk met gevaarlijke chemicaliën worden weliswaar steeds serieuzer genomen, maar sluiten blootstellingsrisico's zelden volledig uit. Clinici

op de gebieden van neurologie, werkomgevings- en milieugezondheid en primaire zorg moeten bereid zijn de risico's van blootstelling aan chemicaliën te herkennen, en hun vermogen schade aan het zenuwstelsel en andere organen te veroorzaken. De klachten van elke patiënt zouden onderzocht moeten worden in de context van zijn of haar (werk)omgeving.

### **1.3.1 Woonomgeving en milieu**

Blootstelling buiten werkomgevingen kan het lastiger maken een specifiek causaal verband te leggen met een mogelijke bron, zelfs als er sprake is van symptomen in meerdere individuen. Chemische industrieën, stortplaatsen en gevaarlijke processen in de buurt van drinkwaterbronnen in de omgeving kunnen een aanwijzing geven, zelfs als er geen specifieke blootstellingen zijn gerapporteerd. Vaak wordt een studie naar gezondheidseffecten uitgevoerd naar aanleiding van het vrijkomen van chemicaliën in de omgeving.

Afgezien van lokale externe bronnen is er ook nog de blootstelling via voedsel, water, bouwmaterialen, huisraad en andere consumentenproducten<sup>2</sup>.

### **1.3.2 Dosis en effect**

Blootstelling over een korte periode, aan een lage dosis, resulteert statistisch in minder gezondheidseffecten. Directe blootstellingen aan hoge concentraties kunnen verschillende directe en indirecte gezondheidsgevolgen hebben. Chronische blootstelling aan lage of hoge doses kan een brede variatie aan effecten veroorzaken. De effecten van langdurige blootstelling kunnen gemoduleerd worden door de achtergrondconcentraties in lucht of water, de omstandigheden en individuele gevoeligheid. Vaak is bewijs van toxische concentraties van bepaalde chemicaliën in de weefsels van de patiënt schaars, tegen de tijd dat de besmette bron onderzocht is en klinische effecten zijn vastgesteld (Feldman RG, 1998a).

### **1.3.3 Conclusies van de Europese milieu instantie**

Onderzoek van de EEA (European Environmental Agency) wijst op een zich snel verwijdende kloof tussen onze kennis van de effecten van chemicaliën, en de productie van nieuwe substanties.

Op dit moment zijn risico-inschattingen voornamelijk gebaseerd op individuele substanties. In werkelijkheid worden ecosystemen en mensen over het algemeen blootgesteld aan erg complexe mengsels (EEA, 1997). Hoewel er een schaarste aan direct wetenschappelijk bewijs is voor het veroorzaken van grote gezondheids- of milieuschade door de meeste synthetische chemicaliën, betekent dit niet dat deze effecten afwezig zijn. De kosten in tijd en bronnen voor de inhaalrace van analyse van toxiciteit en blootstelling voor de duizenden gebruikte chemicaliën zijn enorm. Uitgebreide toxiciteitstests voor een substantie kosten naar schatting €5 miljoen. Deze kosten, de algemene problematiek rond het vaststellen van gezondheidseffecten, de lange tijdsduren tussen blootstelling en waarneembare symptomen, het gebrek aan relevante studies en gegevens, beperken de mogelijkheid om directe causale relaties aan te tonen. Hierdoor valt niet uit te sluiten dat wijdverspreide chronische blootstellingen aan lage concentraties van chemicaliën schade veroorzaken aan gezondheid of milieu. Omdat de risico's ernstig kunnen zijn, mogelijk permanent, en zich pas laat kunnen manifesteren, voorzien vele internationale verdragen inmiddels in maatregelen ter reductie van blootstelling zonder te wachten op absoluut bewijs van schade, het "voorzorgsprincipe" (EEA, 1997).

---

<sup>2</sup> Zie b.v. websites van Greenpeace, WWF, Friends of the Earth e.d.

## 1.4 Neurotoxinen en dementie?

Er bestaan vele voorbeelden van neurotoxinen die in staat zijn selectieve dood van bepaalde groepen van zenuwcellen te induceren. Bijzonder kwetsbaar zijn de perifere zenuwen, maar neurotoxinen zijn ook in staat modellen<sup>3</sup> te produceren van de belangrijkste degeneratieve aandoeningen van het centraal zenuwstelsel: dementie van het Alzheimer-type (AD), Parkinsonisme, en amyotrofe laterale sclerose. (Calne DB, 1991) Tot de organische neurotoxinen waarbij deze werking is gevonden, behoren onder andere pyridines, amines, aminozuren, nitrillen, hexacarbonen en sulfiden. Anorganische voorbeelden zijn stoffen met vrije radicalen, en enkele metalen. Zowel exogene (verkregen uit voeding, lucht, huidcontact, ed.) als endogene (lichaamseigen) toxinen worden verdacht bij deze aandoeningen.

Naar aanleiding van een reeks neurologische analyses van meer dan 3000 blootgestelde personen, kwam Kilburn (1998b) tot de hypothese dat het brein het fysiologisch meest kwetsbare orgaan is voor schadelijke invloeden van chemicaliën. Ingeademde chemische dampen worden na het passeren van het longmembraan opgenomen in de bloedstroom en na het passeren van het hart direct getransporteerd naar de hersenen. Grote hoeveelheden chemicaliën kunnen via de longen in het bloed opgenomen worden. Symptomen van toxische blootstelling worden door de patiënten waargenomen als geheugenverlies, hoofdpijn, irriteerbaarheid, concentratieverlies en slapeloosheid. Met een zorgvuldig samengestelde set van gevoelige prestatietellingen en andere neurologische en gedragstests is het mogelijk gebleken vele klachten objectief te verifiëren, en de progressie van aandoeningen te vergelijken over tijdsintervallen en tussen statistische populaties. Deze vergelijkende analyses leverden nog een belangrijke observatie op: de effecten van chemotoxische hersenschade vertonen veel overeenkomst met versnelde veroudering (Kilburn, 1998a).

### 1.4.1 Veroudering, trauma en dementie

De vraag die in dit literatuuronderzoek nader onderzocht wordt, is deze: in hoeverre is het aannemelijk dat chemotoxische hersenschade cumulatief is, en in staat is de symptomen van pathologische veroudering en dementie te versnellen of zelfs te veroorzaken?

Hierbij is gekeken naar biologische plausibiliteit, epidemiologische aanwijzingen en etiologisch/(patho-)fysiologisch onderzoek. Voor de beoordeling van biologische plausibiliteit is het van belang om enig inzicht te hebben in neurodegeneratieve ziektebeelden, ziektemechanismen en erkende risicofactoren. In dit rapport wordt daarom een overzicht gegeven van de voornaamste pathologische kenmerken en processen die een rol spelen bij de ontwikkeling van dementie. Tevens wordt ingegaan op de neurotoxische mechanismen die geassocieerd zijn met neurodegeneratieve schade.

Het is bekend dat vele gevallen van dementie verschijnselen vertonen van gecombineerde symptomen van meerdere dementerende aandoeningen, wat een plausibele oorzaak is van waargenomen heterogeniteit in bijvoorbeeld de ziekte van Alzheimer en vasculaire dementie (Morris, 2000). Onder andere bepaalde vormen van hoofdtrauma zijn in staat dementie te veroorzaken (zoals in dementia pugilistica). Voor vrijwel elke potentiële endogene factor in de causatie van AD zijn meerdere exogene factoren aan te wijzen die het effect kunnen beïnvloeden. Omdat neuronen en neurale verbindingen in het centraal zenuwstelsel zich over het algemeen niet vernieuwen, accumuleert ernstige schade zich, en door ontsteking en daarbij vrijkomende toxinen kan progressief letsel ontstaan.

Neurotoxinen zijn verantwoordelijk voor een breed spectrum aan neurodegeneratieve schade en hersentrauma. In een aantal onderzoeken is het mogelijke verband tussen blootstelling aan aluminium, organische oplosmiddelen en andere chemicaliën met het ontstaan van dementie van Alzheimer's type geanalyseerd. Studies met diermodellen van dementie, en experimenten met in-vitro neurale weefsels, geven sterke aanwijzingen dat neurodegeneratieve en dementerende aandoeningen het gevolg kunnen zijn van chemische blootstelling. In dit verslag zal de stand van

---

<sup>3</sup> Dit onderzoek baseert zich op observaties van pathologische kenmerken, die eveneens kenmerkend zijn voor neurodegeneratieve aandoeningen in mensen, na experimentele toediening van neurotoxinen aan proefdieren. Als het ziektebeeld voldoende overeenkomt met de humane pathologie, wordt gesproken van een diermodel voor de betrokken aandoening.

zaken in dit onderzoek besproken worden. Omdat het Alzheimer type verreweg het grootste aandeel in dementiegevallen vertegenwoordigt, en onderzoek in dat kader de meeste data heeft opgeleverd, zal dit de boventoon voeren, maar ook andere neurodegeneratieve pathologieën worden besproken.

## 1.5 Opbouw van het rapport

In het hoofdstuk “neurodegeneratieve dementie” wordt een algemeen beeld geschetst van de meest belangrijke dementerende aandoeningen, de symptomen en achterliggende fysiologische mechanismen en risicofactoren. Ook wordt een uitgebreid overzicht gegeven van schadelijke neurale processen, en wordt de vraag besproken in hoeverre deze processen negatief beïnvloed kunnen worden door exogene factoren.

Vervolgens is in het hoofdstuk “neurotoxinen in de omgeving” een beschrijving te vinden van chemische omgevingsfactoren die geassocieerd zijn met neurodegeneratieve aandoeningen, en het achterliggende model van de veroorzaakte neurale schade.

Hierop volgt een beschouwing over de manieren waarop onderzoek naar verband tussen chemicaliën en neurologische aandoeningen kan worden opgezet, en wat de voor- en nadelen zijn van elke aanpak. Aansluitend worden de resultaten van de belangrijkste onderzoeken in verband met de centrale hypothese behandeld. Tot slot wordt een overzicht en discussie gegeven van ontwikkelingen in epidemiologisch onderzoek en andere methoden voor neurotoxische risicoanalyse.

## 2 Neurodegeneratieve dementie

### 2.1 Veroudering en het brein

Veroudering en senescentie worden vaak als synoniemen gebruikt. Technisch gezien duidt senescentie op leeftijdsgelateerde achteruitgang, veroorzaakt door fysiologische veranderingen die inherent zijn aan veroudering van het lichaam, of door leeftijdsgelateerde ziektes zoals de verschillende vormen van dementie. Het brein ondergaat vele globale en pathologische veranderingen bij het vorderen van de leeftijd. Onderzoek naar de moleculaire en cellulaire processen achter veroudering verschaft steeds meer inzicht in leeftijdsgelateerde aandoeningen en neurodegeneratieve mechanismen.

#### 2.1.1 Neuronverlies

Volgens de meeste studies is het hersengewicht en -volume van bejaarden significant verlaagd. Het verlies in gewicht kan uiteindelijk 7 tot 8% van het volwassen piekgewicht bedragen in gezonde individuen (Creasey en Rapoport, 1985). Deze afname in massa kan gedeeltelijk worden verklaard door een verlies in het aantal neuronen. Maar hoewel eerdere studies verlaagde celtellingen in onder andere delen van de neocortex rapporteerden, bleken deze resultaten niet geheel replicerbaar met automatische celtellingstechnieken. Een groot deel van de ogenschijnlijke afname in aantallen neuronen zou in feite verklaard kunnen worden door *krimping* van grote neuronen in plaats van verlies ervan (Schochet, 1998). Andere onderzoeken beschreven neuronverlies in delen van de hippocampus, enkele subcorticale structuren, delen van de hersenstam en onder de Purkinjecellen in het cerebellum (Schochet, 1998).

#### 2.1.2 Plaques

De structuren bekend als *seniele plaques* zijn accumulaties van amyloide-eiwitten, neuronale structuren in verschillende stadia van afbraak, reactieve astrocyten en microglia. Ze worden intercellulair aangetroffen in het brein, als karakteristiek symptoom in Alzheimer patiënten. Ze komen echter, in mindere mate, ook voor in bejaarden bij wie de diagnose van dementie niet is gesteld.

In dit laatste geval gaat het vooral om wat 'diffuse plaques' genoemd worden, die weinig amyloid-eiwitten bevatten en in mindere mate gepaard gaan met neuritische structuren en gliale cellen.

#### 2.1.3 Cerebrovasculaire pathologie

Bij zowel gezonde veroudering als dementie kunnen zich cerebrovasculaire laesies (beschadigingen in de hersenbloedvaten) voordoen. Veranderingen in haarvaten kunnen verminderde doorstroming veroorzaken, waardoor functionele verstoring in het lokale metabolisme en de bloed-hersenbarrière optreden. Een ander type laesie is cerebrale amyloide angiopathie (CAA), dat zich manifesteert als afzettingen van het eiwit amyloide in de wanden van cerebrale bloedvaten. Volgens de huidige opvattingen wordt het betrokken amyloide-eiwit geproduceerd in de gladde spiercellen van de bloedvaten, waarna het zich extracellulair ophoopt in fibrilformaties (Jellinger, 2002). Deze afzettingen dragen bij aan degeneratie van de spiercellen, waarna scheuring van haarvatwanden en bloedingen kunnen optreden.

#### 2.1.4 Insluitsels in het cytoplasma

*Neurofibrillaire tangles* zijn fibreuze accumulaties van proteïnen die toenemen als gevolg van normale veroudering, maar ook geassocieerd zijn met diverse neurologische aandoeningen, zoals de ziekte van Alzheimer. *Neuropildraden* bevatten dezelfde fibreuze proteïnen, en komen

vooral voor in samenhang met neuritische plaques in AD. Ze zijn zeldzaam in intellectueel goed functionerende ouderen.

Karakteristiek voor de ziekte van Parkinson zijn de *Lewy lichaampjes*, cytoplasmatische insluitsels met een kern van granulair en filamenteus materiaal. Ze ontleen hun naam aan diffuse Lewy lichaampjes-ziekte, een vrij algemeen type dementie. Hun voorkomen is ook gerapporteerd in ogenschijnlijk gezonde ouderen.

*Hirano lichaampjes* zijn geassocieerd met een aantal neurodegeneratieve ziekten, waaronder AD, maar worden eveneens aangetroffen in gezonde individuen. Ze bestaan onder andere uit actine-eiwitten. *Marinesco lichaampjes* zijn granulaire insluitsels die voornamelijk in ouderen voorkomen, maar niet specifiek bevonden zijn voor ziektes.

Ophoping van het pigment *lipofuscine* in neuronen wordt gezien als een teken van neurale degeneratie, en is prominent in oudere individuen. *Neuromelanine* is een pigment dat tot ongeveer het 60<sup>ste</sup> levensjaar toeneemt in bepaalde neuronen, en daarna afneemt. Het is waarschijnlijk dat deze afname het gevolg is van selectief afsterven van sterk gepigmenteerde cellen.

*Colloid insluitsels* bestaan uit fijngranulair materiaal, en worden vooral gevonden in bepaalde typen motorneuronen in oudere individuen, zonder associatie met specifieke ziektebeelden.

Neurodegeneratieve formatie van vacuoles met een granulair insluitel wordt veel aangetroffen in het cytoplasma van neuronen in AD-patiënten. Ook in de hippocampus van individuen met Guam-type dementie, de ziekte van Pick, en het Down-syndroom is dit proces aangetroffen.

### 2.1.5 Witte materie

De witte materie bestaat voornamelijk uit gemyeliniseerde axonen (zenuwvezels) in regionen van het brein en het ruggenmerg. In zowel gezonde ouderen als patiënten met AD of vasculaire dementie kan diffuse, gedeeltelijke afbraak plaatsvinden van de witte materie, een proces dat ook wel leukoaraïosis wordt genoemd. Verminderde bloeddorstrooming door verdikte bloedvatwanden is aangewezen als een potentiële oorzaak.

### 2.1.6 Overige leeftijdsgerelateerde neuropathologiën

*Uitzetting van de hersenventrikels* na het 60<sup>ste</sup> levensjaar is waargenomen in ouderen, voornamelijk in samenhang met milde geheugenstoornissen. Corticale atrofie en vergroting van de ventrikels is waarschijnlijk geen onontkoombaar gevolg van veroudering, maar zou eerder duiden op een abnormaal proces.

In *neuroaxonale dystrofie* hopen mengsels van celorganellen zich op in vergrotingen van het uiteinde van axonen. Ze nemen in aantal toe met het vorderen van de leeftijd, en zijn tevens geassocieerd met vitaminedeficiënties.

Groei van het aantal astrocyten, en in mindere mate microglia, is een algemeen verschijnsel bij veroudering. Insluitsels in het cytoplasma van de astrocyten, in de vorm van corpora amylacea, accumuleren in vrijwel alle individuen boven 40 jaar.

## 2.2 Genetische degeneratie en verandering van genexpressie

Het verhoogde voorkomen van genetische defecten in de ziektes van Alzheimer, Parkinson en amyotrofe laterale sclerose binnen bepaalde families suggereert, dat genetische invloeden van belang kunnen zijn in deze dementerende aandoeningen. Het patroon van overerving lijkt op dat van gewone erfelijkheid, maar het is mogelijk dat het in feite gaat om een erfelijke aanleg voor het ophopen van *verworven* genetische defecten (Riggs, 1998). Een plausibel model van genomische entropie is voorgesteld, dat de acquisitie en accumulatie van somatische genetische afwijkingen (oftewel DNA-schade in lichaamscellen) als belangrijke factor heeft in de veroorzaking van meerdere neurodegeneratieve aandoeningen. Met toenemende leeftijd stijgt het aantal DNA-beschadigingen, wat op zichzelf de aanzet zou kunnen geven tot neurodegeneratieve processen.

Zelfs monogenetische (aan één gen gebonden) dementerende aandoeningen zoals de ziekte van Huntington, zouden beïnvloed kunnen worden door dit model. Er is een statistisch verband gelegd tussen premature sterfte in onaangedane familieleden van Huntington- patiënten, en het vervroegde begin van de symptomen van Huntington in de patiënt (Riggs, 1998). Met andere woorden, genen die geassocieerd zijn met levensduur hebben invloed op de aanvang van de ziekte in Huntington-patiënten. In het model van genomische entropie is dit verband te verklaren met een compensatiemechanisme. Neuronen kunnen de degeneratie ten gevolge van de Huntington-symptomen voorkomen zolang de in de loop van het leven verworven, geaccumuleerde genetische defecten onder een bepaalde grens blijven.

Tomei *et al.* (1988) ontdekten hoe het mechanisme van geprogrammeerde celdood, apoptose<sup>4</sup>, uitgeschakeld kan worden door genotoxische substanties. Verlies van apoptotische controle is mogelijk ook een uiteindelijk gevolg van normale veroudering. Gecoördineerde celdood door apoptose is essentieel voor het lichaam om verouderde cellen met geaccumuleerde DNA schade en mutaties te signaleren en te verwijderen of waar mogelijk te vervangen. Met andere woorden: sommige giftige substanties kunnen het proces van ophoping van verworven DNA-schade bevorderen!

Ook in de pathogenese van kanker spelen cumulatieve genetische defecten in somatische cellen een belangrijke rol. De leeftijdsdistributie van sterftegevallen door kanker is goed te verklaren met dit principe, dat de theorie van genomische entropie ondersteunt. De leeftijdsdistributie van sterftegevallen door veel neurodegeneratieve aandoeningen volgt een zelfde patroon, hetgeen, samen met de theorie van verlies van apoptotische controle, een aanwijzing vormt dat accumulatie van genetische abnormaliteiten een belangrijke factor is in diverse vormen van pathologische veroudering.

### 2.2.1 Genexpressie

Onderzoek naar de leeftijdsgerelateerde genexpressie in de hypothalamus en cortex van muizen leverde een aantal belangrijke observaties over de rol hiervan in neurologische aandoeningen. Zo bleek expressie van de genen voor onder andere synaptotagmine I, cAMP-afhankelijk proteïne kinase C bèta, apolipoproteïne E, proteïne fosfatase 2A, en prostaglandine D, die waarschijnlijk betrokken zijn bij geheugenstoornissen en neurodegeneratieve aandoeningen, in verouderde breinen significant te veranderen (Jiang *et al.*, 2001). Van een deel hiervan bleek de expressie ook te beïnvloeden door de muizen in een verrijkte omgeving te plaatsen. Hieruit lijkt te volgen dat stimulatie van geheugen en aanverwante activiteit de effecten van veroudering in dit opzicht kan beïnvloeden. Een andere interessante bevinding was de verhoogde expressie van proteases die een rol spelen in de vorming van het amyloïde-eiwit, en apoptose.

## 2.3 Gegeneraliseerde hersenschade

Hersenschade door mechanische oorzaken en andere vormen van trauma kan helpen inzicht te geven in vergelijkbare effecten ten gevolge van neurotoxische chemicaliën. Trauma aan het centraal zenuwstelsel, hersentumoren, hersenbloedingen en alcoholische encephalopathie kunnen tot verlaagde neurologische prestaties leiden. Hersenschuddingen hebben soms geheugenverlies, afasie, concentratiestoornissen en chronische vermoeidheid tot gevolg.

---

<sup>4</sup> Komt nader ter sprake in hoofdstuk 3.3 – “Pathofysiologische mechanismen”





### 3 Etiologie van AD en non-AD dementie

De klinische definitie van dementie luidt “de ontwikkeling van meerdere cognitieve stoornissen waaronder aantasting van het geheugen en tenminste één van de volgende: afasie, apraxie, agnosie, of een stoornis in het uitvoeren van handelingen”. Het minder betrouwbaar functioneren van hogere cognitieve processen en geheugen verhindert de patiënt in haar gebruikelijke activiteiten.

De classificatie van de verschillende typen dementie nam een aanvang omtrent het begin van de 20<sup>ste</sup> eeuw. Tot het einde van de 20<sup>ste</sup> eeuw bleef deze classificatie voornamelijk gebaseerd op klinische en pathologische beschrijvingen. In 1983 en 1987 werden respectievelijk de ziektes van Huntington en Alzheimer gelokaliseerd op chromosoom 21. Dit was het startsignaal voor intensieve internationale onderzoeksinspanningen om de moleculaire mechanismen en verstoringen bloot te leggen die de verschillende vormen van dementie karakteriseren. DNA-analyse heeft inmiddels voor een groeiend aantal neurologische aandoeningen duidelijke genetische correlaten ontdekt.

De kennis omtrent functies van genproducten is echter verre van compleet, en complicerende factoren in overerving en expressie betekenen dat causale mechanismen lastig te identificeren zijn. Klinische evaluatie speelt daarom bij de herkenning van dementie nog steeds een centrale rol.

Geen enkel classificatieschema voor dementie is totnogtoe in staat geweest om alle dementerende ziektes volledig en ondubbelzinnig in te delen. De ziekte van Alzheimer bijvoorbeeld heeft zowel neurodegeneratieve als “verworven” (door externe factoren) oorzaken, kent een variatie in aanvangsleeftijd van tientallen jaren en heeft genetische en niet-genetische vormen. In dit hoofdstuk zullen de ziekte van Alzheimer, Parkinson, en de belangrijkste andere dementerende aandoeningen besproken worden, waarbij overlap tussen ziektebeelden wordt toegelicht. De focus ligt hierbij op etiologische beschrijvingen. Tabel 1 geeft een overzicht van alle bekende vormen van dementie, ingedeeld naar oorzaak.

#### **Dementerende ziektes**

##### **Neurodegeneratieve Aandoeningen:**

De ziekte van Alzheimer

Down syndroom

De ziekte van Parkinson

Dementie met Lewy lichaampjes

Frontotemporale dementiën

De ziekte van Pick

Frontotemporale lob degeneratie

Frontale lob dementie

Frontale lob dementie geassocieerd met motor neuron ziekte

Progressieve nonfluente afasie

Semantische dementie

Tauopathiën

Frontotemporale dementie met parkinsonisme gelinkt aan chromosoom 17

Familiale progressieve subcorticale gliose

Familiale multipele systeem tauopathie

Corticobasale degeneratie

Progressieve supranucleaire paralyse

Multipele systeem atrofie

De ziekte van Huntington

Mesolimbocorticale dementie

Amiotrofe laterale sclerose-parkinsonisme-dementie complex

Argyrophilische hersenziekte

**Cerebrovasculaire Aandoeningen:**

Vasculaire dementie

Multiinfarct dementie

Subacute arteriosclerotische encephalopathie (ziekte van Binswanger)

Amyloïde angiopathie

Erfelijke cerebrale bloeding met amyloidose-Dutch type (HCWA-D)

Cerebrale autosomaal-dominante arteriopathie met subcorticale infarcten en leukoencefalopathie (CADASIL)

Hippocampale sclerose

Vasculitis

Subarachnoïde bloeding

Neurocognitieve aandoeningen geassocieerd met hart bypass

**Prion-geassocieerde Aandoeningen:**

Creutzfeldt-Jakob ziekte

Variant Creutzfeldt-Jakob ziekte (gelinkt aan bovine spongiforme encephalopathie)

Gerstmann-Straussler-Scheinkerziekte

Fatale familiale insomnia

**Neurogenetische Aandoeningen:**

Spinocerebellaire ataxias

Dentatorubral-pallidoluysiane atrofie

Hallervorden-Spatz ziekte

Gangliosidoses

Kufs ziekte (volwassen neuronale ceroid lipofuscinose)

Machado-Joseph ziekte (Azorean ziekte)

Lafora's ziekte

Mitochondriale encephalopathiën

Myotonische dystrofie

Porphyrie

Hepatolenticulaire degeneratie (ziekte van Wilson)

**Infectieuze Aandoeningen:**

Meningitis (b.v. tuberculose)

Encephalitis (inclusief herpes simplex)

Human immunodeficiency virus (HIV, of AIDS)

ziekte van Lyme

Progressieve multifocale leukoencefalopathie

Neurosyphilis

De ziekte van Whipple

**Toxische/Metabolische Encephalopathiën:**

Systemisch

Thyroid, parathyroid, pituitaire, arsenalen, lever-, pulmonaire, pancreas-, nier-, of bloed- aandoeningen

Sarcoïdose

Syndroom van Sjogren

Systemische lupus erythematosus

Hyperlipidemie

Voedingsdeficiëntie (vitaminen B1, B12)

Vloeistof en elektrolyt abnormaliteiten

Hypoglycaemie

Hypoxische/ischemische aandoeningen

<p>Toxisch</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Medicijnen</li> <li>Alcohol</li> <li>Industriële agenten</li> <li>Zware metalen (Pb, Hg, Mn, Ar, Th, Al, Sn, Bi)</li> <li>Koolmonoxide</li> </ul> <p><b>Overig:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Demyeliniserend: <ul style="list-style-type: none"> <li>Multipele sclerose</li> </ul> </li> <li>Posttraumatisch <ul style="list-style-type: none"> <li>Subdurale hematoma</li> <li>Dementia pugilistica</li> </ul> </li> <li>Neoplasma <ul style="list-style-type: none"> <li>Paraneoplastische syndromen (limbische encephalitis)</li> <li>Directe effecten van primaire and metastatische tumoren</li> </ul> </li> <li>Hydrocephalus</li> <li>Affectieve aandoeningen (depressie)</li> </ul>
---

**Tabel 1. Algemene classificatie van dementerende aandoeningen. (Bron: Morris, 2000)**

### 3.1 Alzheimer-type Dementie

AD is de meest voorkomende oorzaak van dementie. Tot 47% van alle individuen van 85 jaar en ouder is AD-patiënt. Er bestaat momenteel geen klinische test die absolute zekerheid kan verschaffen over aanwezigheid van dementie van Alzheimer's type, dus kan de diagnose soms gemist worden. Vaak worden laboratorium en hersenscan-procedures ingeschakeld om te testen voor aanwezigheid van andere aandoeningen die tevens cognitieve gebreken kunnen veroorzaken. Pas in post-mortem neuropathologische analyse kan een definitieve evaluatie gemaakt worden.

De medische consensus is dat de karakteristieke symptomen van AD bestaan uit een geleidelijke aanvang en progressie van geheugenverlies en andere cognitieve functies (Carr *et al.*, 1997). Bevestiging van de achteruitgang van de patiënt door informatie van bekenden en familie of verzorgers geeft meer zekerheid en kan behulpzaam zijn bij de evaluatie. De aanwezigheid van stoornissen in het korte-termijn geheugen manifesteert zich vaak in herhaling, het verliezen van objecten, en gemiste afspraken. Recente gebeurtenissen worden steeds frequenter incompleet of niet herinnerd, en uiteindelijk wordt ook het lange-termijn geheugen aangetast. Vaak treden gedragsveranderingen op, zoals desinteresse, passiviteit en terugtrekking. De eerste verschijnselen zijn subtiel, maar het onderscheiden hiervan tegen de achtergrond van veranderingen die deel uitmaken van 'normale' veroudering is belangrijk. Het algehele functioneren neemt af, wat te zien is in verminderende rijvaardigheid, gebrekkige financiële beheersing, en het niet langer in staat zijn complete maaltijden te koken. Taalbeheersing, praktische vaardigheden, herkenning, oordeelkundigheid, aandacht, inzicht en zelfstandig handelen gaan in toenemende mate achteruit. Met het voortschrijden van het ziekteproces kunnen verstoringen in het gedrag optreden, zoals rusteloosheid en opwinding, 'ijsberen', paranoia, hallucinaties en waandenkbeelden. In de laatste ziektestadia is de patiënt niet langer in staat te communiceren of anderen te begrijpen, en kan in een vegetatieve staat overgaan. De uiteindelijke doodsoorzaak is meestal een co-morbide ziekte zoals (aspiratie-) pneumonia of longembolie. Gemiddelde levensverwachting na aanvang van AD is 8 tot 10 jaar, met een grote variabiliteit.

### 3.1.1 Macroscopische veranderingen

Globale zichtbare veranderingen in hersenspecimens afkomstig van AD-patiënten zijn zeer non-specifiek van aard en vertonen veel overlap met die in het normale verouderingsproces. Corticale atrofie is te zien in vrijwel alle hersenen van AD-gevallen, maar de omvang hiervan is vrij wisselend, en niet gecorreleerd met de graad van achteruitgang. De atrofie is het duidelijkst in de frontotemporale associatieve cortex, maar meestal niet te vinden in de primaire cortex, sensorische en visuele hersengebieden (Perl, 2000). In veel patiënten gaat dit gepaard met afname in hersengewicht en dikte van de grijze materie in het cerebrum. Het verlies van corticaal weefsel leidt in het algemeen tot uitzetting van de laterale ventrikels. Toch is de statistische overlap te groot gebleken om op basis hiervan AD van normale veroudering te onderscheiden. Bij Alzheimer's ziekte met vervroegde aanvang is er overigens meestal wel een duidelijk verschil in de graad van cerebrale atrofie tussen patiënten en controlegroepen van gelijke leeftijd. Op grote schaal zichtbare atrofie van de hippocampus, met selectieve uitzetting van de temporale hoorn, is vaak wel een relatief betrouwbare aanwijzing dat er bij post mortem onderzoek microscopisch bewijs van de ziekte van Alzheimer gevonden zal worden in hersensecties (Perl, 2000).

### 3.1.2 Microscopische veranderingen

De uiteindelijke diagnose van AD is vaak gebaseerd op een aantal patronen van karakteristieke neuropathologische afwijkingen. Afzonderlijk komen vrijwel al deze abnormaliteiten ook voor bij gezonde ouderen. Het onderscheid wordt gemaakt aan de hand van de omvang en verspreiding van de pathologische kenmerken.

### 3.1.3 Neurale plaques

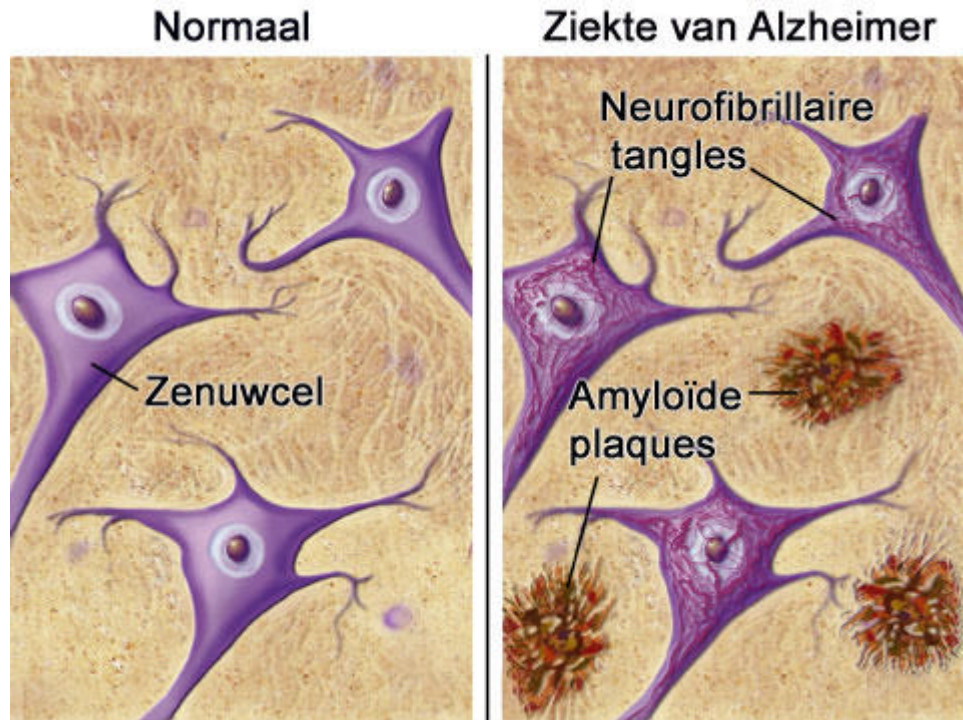
In de midden- en latere stadia van AD zijn neurale plaques vrijwel altijd wijdverbreid gedistribueerd in de cerebrale cortex. De dichtheid van de plaques is momenteel het belangrijkste criterium in neuropathologische diagnose van AD. Ze zijn al prominent aanwezig in een stadium waarin de symptomen van dementie nauwelijks detecteerbaar zijn, wat ondersteuning geeft aan de hypothese dat ze een belangrijke causale factor vormen in de ontwikkeling van AD. Vanaf het ontstaan van de eerste neurale laesies tot het punt waar sprake is van waarneembare dementie, kunnen meer dan 10 jaar verlopen (Carr *et al.* 1997).

De plaque is een relatief grote en complexe structuur, met een typische diameter van 50 tot 150 micrometer. De voornaamste component van de seniele of neuritische plaque is een extracellulaire accumulatie van een specifiek eiwit,  $\beta$ -amyloid<sup>5</sup>. Dit type plaque heeft een centraal uitstralende kern van  $\beta$ -amyloid en is omringd met een corona van dystrofische axonen en dendriten. In deze dystrofische neurieten bevinden zich ophopingen van filamenten met een helixstructuur, membraanfragmenten en andere insluitsels. In de periferie van vele neuritische plaques bevinden zich geactiveerde microgliale cellen en soms ook reactieve astrocyten. Structuren die waarschijnlijk corresponderen met latere stadia van neuritische plaques zijn aangetroffen, bestaande uit een dichte kern van  $\beta$ -amyloid, maar zonder neuritisch materiaal. Diffuse plaques kenmerken zich door een minder dichte kern, waarin het  $\beta$ -amyloid zich (nog) niet tot een plaatstructuur heeft gevormd. Ze worden niet vergezeld van neurieten en gliale cellen, en de plaques komen diffuus verspreid voor in het neuropil (het netwerk van synapsen, axonen en dendriten). Dit type plaques komt wijdverspreid voor als gevolg van het normale verouderingsproces, zonder specifiek geassocieerd te zijn met cognitieve stoornissen (Perl, 2000). In over het algemeen niet-geaffecteerde regionen van het Alzheimer brein, zoals het cerebellum en de hypothalamus, blijken vrijwel alle plaques van dit laatste type te zijn (Selkoe, 2000). Kwantitatieve correlaties zijn gevonden tussen de mate van voorkomen van amyloide plaques en de ernst van de cognitieve stoornis in AD patiënten (Selkoe, 2000).

---

<sup>5</sup> De eigenschappen en oorsprong van dit eiwit, alsmede de rol ervan in diverse pathologische processen, worden nader besproken in hoofdstuk 3.3 – “Pathofysiologische mechanismen”

Plaques worden aangetroffen als tussenvormen tussen diffuse en neuritische stadia, waarbij de diffuse plaques mogelijk een precursor vormen in het pathologische proces. Een toename van de fibrillaire vorm van  $\beta$ -amyloid, naast associatie met gliale cellen, begeleidt de neuritische veranderingen (Selkoe, 2000).



**Figuur 1: amyloïde plaques en neurofibrillaire tangles vormen een kenmerkend pathologisch verschijnsel bij Alzheimer-type demantie**

### 3.1.4 Neurofibrillaire tangles

Kluwenachtige fibril-aggregaten in het cytoplasma van neuronen zijn één van de voornaamste kenmerken die gepaard gaan met AD. Ze komen evenwel ook voor bij verscheidene andere neurodegeneratieve aandoeningen, zoals postencephalisch parkinsonisme, posttraumatische demantie, amyotrofe laterale sclerose en de Niemann-Pick ziekte (Perl, 2000).

In pyramidale neuronen komen de neurofibrillaire tangles (knopen) vaak voor als grove kluwens van fibrillen rond de celkern, uitlopend tot in de apicale dendriet. In neuronen met een rond cellichaam verschijnen de tangles als golvende, verweven, vezelachtige structuren, en worden dan ook wel 'globoïde tangles' genoemd.

Waarschijnlijk vormen neurofibrillaire tangles (NFT) een zware belemmering voor het functioneren van de cel. Toch lijken de aangedane neuronen bij microscopisch onderzoek meestal gezond en intact te zijn, wat suggereert dat celdood in neuronen met NFT kennelijk een zeer traag proces is. In regionen waar aanwezigheid van NFT prominent is, kan over het algemeen een hoeveelheid neurofibrillaire tangles worden aangetroffen die los in het neuropil<sup>6</sup> liggen. Deze extracellulaire neurofibrillaire tangles vertegenwoordigen waarschijnlijk restanten van NFT-dragende neuronen. Ook in de neuritische bestanddelen van amyloïde plaques worden vaak NFT aangetroffen (Perl, 2000).

<sup>6</sup> Het neuropil is de met cerebrospinale vloeistof gevulde ruimte tussen neuronen, bloedvaten en gliale cellen.

Ultrastructureel onderzoek toont aan dat de neurofibrillaire tangles samengesteld zijn uit lange opeenpakkingen van abnormale filamenten, met een individuele diameter van 10 nm. Deze op hun beurt bestaan uit gepaarde filamenten met een helixstructuur en een periodiciteit van 80 nm, wat aanleiding gaf tot de naam “gepaarde helische filamenten” (paired helical filaments, PHF). De PHF zijn opgebouwd uit zeer stabiele, extreem slecht oplosbare proteïnen. De hoofdcomponent van de filamenten is een gehyperfosforyleerde en onoplosbare vorm van het eiwit dat gewoonlijk aangeduid wordt als *tau* (Perl, 2000). Dit eiwit komt normaal gesproken in een goed oplosbare vorm voor in het cytosol, in associatie met microtubuli (Selkoe, 2000).

### 3.1.5 Neurodegeneratie en synaptisch verlies

Verlies van neuronen en synapsen is gerelateerd aan de ontwikkeling van cognitieve achteruitgang in AD, wat onder andere wordt geweten aan aantasting van het cholinerge neurotransmittersysteem. Correlaties tussen de graad van cognitieve stoornissen en cholinerge degeneratie in de nucleus basalis van Meynert (nbM) zijn gevonden in post-mortem studies van AD patiënten (Tran *et al.*, 2002).

Onderzoek met een marker voor synaptische integriteit, suggereerde dat in AD-patiënten een enorm verlies van presynaptische elementen optreedt, vergeleken met controlegroepen van identieke leeftijd (Perl, 2000). Bovendien was er sprake van een sterke correlatie tussen de grootte van het verlies en de mate van functionele achteruitgang, wat aannemelijk maakt dat dit proces verantwoordelijk is voor de cognitieve stoornissen in AD. Ultrastructureel onderzoek heeft de bevinding van significant synaptisch verlies bevestigd.

### 3.1.6 Ontwikkelingsstadia

Er is op dit moment nog weinig bekend is over de exacte oorzaak van de neurologische symptomen van Alzheimer's ziekte, en de definitieve diagnose bij post-mortem analyse berust voornamelijk op een enigszins arbitraire indeling met grenswaarden voor het aantal plaques. Aangezien ook de gedragssymptomen vrij non-specifiek zijn in vroege stadia van AD, moet aangenomen worden dat de vaststelling van de precieze aanvang van de aandoening in een ouder individu op veel onzekerheid berust. Dit heeft geleid tot een controverse over de mate waarin gedeeltelijke expressie van AD kenmerken deel uitmaakt van het normale verouderingsproces (Perl, 2000).

Late stadia van de ziekte manifesteren zich in zeer hoge seniele plaque en NFT gehaltes in het brein. Uit een aantal studies blijkt dat de hoeveelheid NFT en plaque belasting correleert met de graad van dementie in patiënten met een aandoening in een mild stadium.

## 3.2 Non-Alzheimer Dementie

### 3.2.1 Lewy lichaampjes en dementie

Lewy lichaampjes zijn ronde neurale insluitsels in het cytoplasma van neuronen met een dichte kern en een uitstralende krans van filamenten. Deze filamenten zijn opgebouwd uit abnormaal afgebroken en gefosforyleerde neurofilament eiwitten, die ubiquitine,  $\alpha$ -synucleïne en geassocieerde enzymen bevatten (McKeith en Burn, 2000).

#### 3.2.1.1 Parkinson

De ziekte van Parkinson (PD, Parkinson's Disease) wordt neuropathologisch gedefinieerd door aanwezigheid van Lewy lichaampjes en zenuwcelverlies in de substantia nigra. Lewy lichaampjes worden veelal ook aangetroffen in de dorsale motorische nucleus van de vagus, de nucleus basalis van Meynert en de locus coeruleus, waar eveneens celverlies optreedt. Hiernaast komen de lichaampjes voor in neuronen van de raphe nuclei, de Edinger-Westphal nucleus van het middenbrein, de bulbus olfactorius, sommige autonome ganglia en in mindere mate in de cerebrale cortex. De karakteristieke bewegingsstoornis in PD is grotendeels te wijten aan schade

aan het extrapyramidale systeem<sup>7</sup>. Deze bestaat onder andere uit verlies van dopaminerge neuronen in het nigrostriatum, wat ook een mogelijke oorzaak is van subtiele cognitieve stoornissen. Bovendien is dementie in PD geassocieerd met verlies van neuronen in de mediale substantia nigra. Voor andere stoornissen in PD zijn causale pathologische processen nog grotendeels onbekend. Vaak worden gebreken in neurotransmissie van cholinergische, noradrenergische en serotonergische aard als mogelijke oorzaak aangevoerd voor depressie, cognitieve disfunctie en vegetatieve toestand. Maar er wordt verondersteld dat cholinergische denervatie door verlies van neuronen in de nucleus basalis van Meynert op kan lopen tot grenswaarden tussen 65% en 80% voordat dementie in Parkinson tot uitdrukking komt (McKeith en Burn, 2000).

### **3.2.1.2 Dementie met Lewy lichaampjes**

Dementie met Lewy lichaampjes (DLB, Dementia with Lewy Bodies) wordt onderscheiden van PD met dementie. Hoewel er in beide gevallen over het algemeen sprake is van voorkomen van Lewy lichaampjes, manifesteren zich deze in DLB voornamelijk corticaal, en hebben hier een iets andere ultrastructuur en een specifiek patroon van verspreiding in de cortex. De verspreiding van Lewy lichaampjes in DLB beperkt zich voornamelijk tot de limbische en paralimbische cortex. Welke invloed neocorticale distributie van Lewy lichaampjes op de aandoening kan hebben is niet bekend, en er zijn nog geen consistente correlaties tussen de hoeveelheid Lewy lichaampjes en de ernst van symptomen in DLB gevonden.

Het eiwit  $\alpha$ -synucleïne speelt waarschijnlijk een zeer belangrijke rol in de pathogenese van aandoeningen met Lewy lichaampjes. Het wordt aangetroffen in de kern van Lewy lichaampjes, en in neurieten met Lewy lichaam-achtige filamenten. Ook zijn mutaties gevonden in het gen dat codeert voor  $\alpha$ -synucleïne in stambomen met PD (McKeith en Burn, 2000).

Patiënten met PD en dementie, en DLB-patiënten, hebben vaak plaque-achtige extracellulaire afzettingen van  $\beta$ -amyloid, vergelijkbaar met de neuritische en diffuse plaques in de ziekte van Alzheimer. Hoge dichtheden van NFT worden daarentegen slechts in een minderheid van PD+dementie en DLB gevallen aangetroffen, zonder correlatie tussen de hoeveelheid NFT en de ernst van de symptomen. Dit in tegenstelling tot de situatie bij Alzheimer-type dementie, waar een significante correlatie tussen NFT en cognitieve stoornis wel is gevonden (Selkoe, 2000). Het is mogelijk dat neuropathologische afwijkingen van Alzheimer's type bijdragen aan cerebrale disfunctie in LB-gerelateerde aandoeningen. Ongeveer 50% van alle PD-patiënten ontwikkelt uiteindelijk klinische dementie. Uit neuropathologisch onderzoek is gebleken dat 25% van alle gevallen van Alzheimer-type dementie PD-pathologie vertoont, zoals Lewy lichaampjes en degeneratie van de substantia nigra (Morris, 2000). De laesies veroorzaakt door de pathologie van DLB- en AD-type dementie kunnen afzonderlijk en onafhankelijk van elkaar voorkomen, maar kunnen bij gezamenlijk voorkomen op synergistische wijze bijdragen aan cerebrale disfunctie (McKeith en Burn, 2000). Een gemeenschappelijke risicofactor voor sporadische AD, PD en DLB is waarschijnlijk het bezit van het apolipoproteïne e4 allel (McKeith en Burn, 2000).

Ook in het autonome zenuwstelsel kunnen Lewy lichaampjes voorkomen, zowel in PD als DLB-gevallen. Hier zijn ze veelal geassocieerd met cardiovasculaire abnormaliteiten, en soms met posturale hypotensie en flauwtes (Morris, 2000).

### **3.2.2 Cerebrovasculaire dementie**

Cerebrovasculaire aandoeningen, hoofdzakelijk in de vorm van cerebrale infarcten, vormen een algemeen voorkomend ziektebeeld in ouderen. Post-mortem studies hebben aangetoond dat ongeveer 30% van hersenspecimens uit de bejaarde (>85 jaar) populatie bewijs vertoont van een eerder cerebraal infarct (Perl, 2000). Hoewel vele hiervan klein en van weinig klinisch belang zijn,

---

<sup>7</sup> Het extrapyramidale systeem bestaat uit de afdalende (motorische) zenuwbanen die niet door de medullaire pyramidale cellen verlopen.



kan de geaccumuleerde schade van vele kleinschalige infarcten, in meerdere corticale structuren, in cerebrale disfunctie resulteren. Dit wordt meestal verbonden aan de diagnose van vasculaire dementie, als er onvoldoende AD-type laesies worden gevonden. Het type dementie, dat puur het gevolg is van de destructieve effecten van herseninfarcten, komt relatief weinig voor, in een lokaal onderzoek van Perl (2000) vertegenwoordigde multi-infarct dementie naar schatting 6% van alle dementiegevallen. Het aantal AD-patiënten waarbij bewijs van cerebrale infarcten werd aangetroffen, was driemaal zo hoog.

De specifieke diagnose van cerebrovasculaire dementie wordt waarschijnlijk in veel gevallen ten onrechte gesteld (Morris, 2000). De klinische diagnose wordt in de meeste neuropathologische onderzoeken naar vasculaire dementie niet bevestigd.

### 3.2.3 De ziekte van Pick

Deze relatief zeldzame neurodegeneratieve ziekte wordt gekenmerkt door een duidelijk afgebakende en ernstige frontotemporale en gedeeltelijk limbische atrofie. In deze gebieden komen in het cytoplasma van neuronen insluitsels voor, Pick bodies genaamd, die niet membraangebonden zijn en een ronde vorm hebben. Ze bestaan uit een willekeurige accumulatie van rechte filamenten met een diameter van 14 tot 16 nm, en een variabele lengte. Ze komen voor in een mengsel met gedraaide filamenten, die volkomen verschillen van de gepaarde helische filamenten in AD. Fysiologisch manifesteert de ziekte van Pick zich als neuronverlies en gliose in de aangedane gebieden. Karakteristieke klinische symptomen bestaan uit emotionele en gedragsmatige veranderingen, zoals apathie, stoornissen in seksueel gedrag, eetgedrag en achteruitgang in taalbeheersing die uiteindelijk kan verergeren tot een non-communicatieve toestand. In deze gebieden kan het zelfs lastig zijn om intacte neuronen te vinden. Cytoplasmatische insluitingen zijn ook aangetoond in gliale cellen in gevallen van de ziekte van Pick.

In vroege stadia kunnen de symptomen van de ziekte van Pick niet te onderscheiden zijn van die in AD, zodat uitgebreide evaluatie, van onder andere geheugengebreken, benodigd is voor de differentiële diagnose. In sommige gevallen van Pick's ziekte zijn eveneens neuropathologische kenmerken van AD aanwezig, zoals NFT en seniele plaques.

De diagnose van Pick's ziekte zonder Pick lichaampjes wordt gewoonlijk toegekend aan gevallen van dementie zonder duidelijk te onderscheiden histopathologische kenmerken, bij selectieve degeneratie van de frontotemporale cortex.

## 3.3 Pathofysiologische mechanismen

Pathologisch en genetisch onderzoek heeft een veelheid aan neuromoleculaire processen blootgelegd die ervan verdacht worden een rol te spelen in verschillende ziektebeelden van dementie. De voornaamste factoren die celdood kunnen induceren, de cellulaire beschermingsmechanismen afbreken, neurale disfunctie veroorzaken of degeneratieve kettingreacties initiëren zullen hier besproken worden, evenals de rol die ze volgens de meest recente inzichten spelen in de pathologie van dementerende aandoeningen.

### 3.3.1 $\beta$ -amyloid

Beta-amyloid is een proteïnefragment afkomstig van de proteolytische splitsing van *amyloid precursor proteïne* (APP).

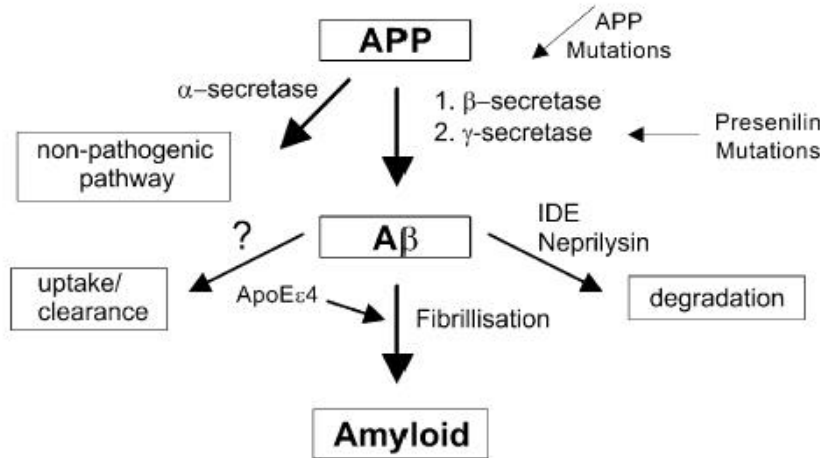
#### 3.3.1.1 $\beta$ -amyloid metabolisme

Het gen dat codeert voor APP bestaat uit 18 exonen die na splicing 10 isovormen kunnen creëren. Er zijn twee homologen van het APP gen geïdentificeerd, maar deze hebben weinig homologie in het deel dat overeenstemt met  $\beta$ -amyloid, en kunnen dus niet verantwoordelijk zijn voor vorming hiervan (Evin en Weidemann, 2002). Expressie van APP isovormen in perifere

weefsels zou onder andere betrokken zijn bij regulatie van bloedstollingsfactoren. In neuronen komt een isovorm van APP, bestaande uit 695 aminozuur residuen, tot expressie, waaruit een insert mist (KPI), dat wel aanwezig is in de isovormen in perifere weefsels. De structuur van APP is die van een type 1 integraal membraan eiwit, met een groot ectodomein, een enkel membraanoverspannend domein, en een kort cytosolisch domein.

Van de fysiologische functie van APP is nog weinig bekend, al is het geassocieerd met cellulaire adhesie, cel-cel en cel-matrix interacties, en inductie van neuriet-uitgroei. Uitschakeling van het gen dat codeert voor APP in dieren leidt niet tot afwijkende fenotypes, maar dit is mogelijk het gevolg van substitutie door APP-homologen en redundantie van genetisch materiaal.

De verwerking tot de definitieve vorm van APP beslaat glycosylatie, sulfatie en fosforylatie (Evin en Weidemann, 2002). Het hoge gehalte van koolhydraten door glycosylatie stemt overeen met een functie in cel adhesie en interacties met de extracellulaire matrix. Het  $\beta$ -amyloid gebied verkrijgt de aggregatie-eigenschappen en hydrofobiciteit uit het transmembraan domein, waarmee het gedeeltelijk overlapt. Een aantal functionele domeinen van APP binden  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ , heparine, collageen en laminine. Het koperbindende domein is aanwezig in alle isovormen van APP en homologen, wat aannemelijk maakt dat het essentieel is voor de structuur en/of functie. APP heeft mogelijk een beschermende rol voor neuronen, doordat het in staat is  $\text{Cu}^{2+}$  te



**Figuur 2. Verschillende verwerkingsroutes van APP. (Bron: Evin en Weidemann, 2002)**

reduceren tot  $\text{Cu}^{+}$ . Dit domein is tevens aanwezig in  $\beta$ -amyloid, waardoor divalente metaal kationen gebonden kunnen worden die cytotoxische aggregatie van het peptide mogelijk maken (Evin en Weidemann, 2002). Zo toonde onderzoek in transgene muizen een correlatie aan tussen synaptische zink-ionen en amyloïde depositie (Lee *et al.*, 2002). Dit suggereert de mogelijkheid dat endogene metalen kunnen bijdragen aan de vorming van amyloïde plaques.

Meerdere routes zijn mogelijk voor de proteolytische splitsing van APP. Alle met de ziekte van Alzheimer geassocieerde mutaties in het APP-gen zijn aangetroffen in de regionen die deze splitsing, en daarmee de vorming van  $\beta$ -amyloid, beïnvloeden. Het enzym  $\alpha$ -secretase splitst binnen het  $\beta$ -amyloid domein en is daardoor niet in staat  $\beta$ -amyloid te vormen. Splitsing door achtereenvolgens  $\beta$ -secretase en  $\gamma$ -secretase produceert  $\beta$ -amyloid. Het gaat hier om een tamelijk ongewone splitsing, in dit opzicht dat zij plaatsvindt in een transmembraan domein en op een non-specifieke sequentie, waardoor meerdere splitsingsproducten mogelijk zijn. De variant bestaande uit 40 aminozuren,  $\text{A}\beta_{40}$ , komt het meest frequent voor. Dit peptide is goed oplosbaar in water, in tegenstelling tot langere varianten, die hierdoor met grotere waarschijnlijkheid aggregeren. Na  $\text{A}\beta_{40}$ , is  $\text{A}\beta_{42}$  de meest aangetroffen variant. Deze vorm van het amyloid eiwit maakt het grootste deel uit van diffuse neurale plaques. Neuritische plaques bevatten een

mengsel van A $\beta$ 40 en A $\beta$ 42 (Selkoe, 2000). A $\beta$ 42 vertegenwoordigt 10% tot 15% van de totale A $\beta$  productie in de hersenen van diersmodellen, en celculturen (Evin en Weidemann, 2002). Recent onderzoek heeft een verband gelegd tussen expressie van een set van specifieke membraaneiwitten, de presenilinen (PS), en splitsing van APP door het nog onbekende  $\gamma$ -secretase. Er is gesuggereerd dat  $\gamma$ -secretase in feite een preseniline eiwit is, maar deze hypothese vereist waarschijnlijk dat er meerdere eiwitfactoren benodigd zijn voor de A $\beta$ -vormende APP splitsing. Mutaties in PS zijn geassocieerd met abnormale A $\beta$  vorming (zoals A $\beta$ 42) in onder andere de ziekte van Alzheimer, maar het mechanisme hierachter is nog onvoldoende opgehelderd. Het is mogelijk dat de veranderde membraansamenstelling in verouderde cellen invloed heeft op de klievingslocatie in het transmembrane domein, waardoor de kans op A $\beta$ 42 productie wordt verhoogd (Evin en Weidemann, 2002).

### 3.3.1.2 $\beta$ -amyloid pathologie

Biochemisch en genetisch onderzoek wijst uit dat de balans tussen productie en afbraak van  $\beta$ -amyloid is gewijzigd in de ziekte van Alzheimer (Evin en Weidemann, 2002). Volgens de amyloid cascade hypothese is accumulatie en aggregatie van  $\beta$ -amyloid de primaire oorzaak van de ziekte van Alzheimer. De aggregatie veroorzaakt een ontstekingsrespons, die vervolgens kan leiden tot neuritische schade, hyperfosforylatie van tau eiwit en formatie van neurofibrillaire tangles, en uiteindelijk neuronale disfunctie en celdood (Evin en Weidemann, 2002). Er zijn aanwijzingen uit experimentele gegevens dat verschillende vormen van  $\beta$ -amyloid neuronale celdood kunnen veroorzaken, doordat ze een wijde reeks van neuronale en gliale functies beïnvloeden (Harkany *et al.*, 2000). Overproductie van  $\beta$ -amyloid in transgene cellijnen met fataal gevolg is aangetoond in meerdere onderzoeken, maar de precieze toedracht van de cascade van schadelijke effecten is nog onduidelijk.

Een alternatieve hypothese voor een neurodegeneratieve rol van  $\beta$ -amyloid is voorgesteld op basis van de recente vinding dat nonfibrillaire, oplosbare  $\beta$ -amyloid peptiden binnen een tijdspanne van minuten zichtbare cellulaire degeneratie induceerden, bij vrijwel fysiologische concentraties. Deze bevindingen maken het aannemelijk dat relatief lage concentraties van nonfibrillaire beta-amyloides cytotoxische effecten kunnen hebben (Zhu *et al.*, 2000). Dit is in overeenstemming met het feit dat  $\beta$ -amyloid peptiden van verschillende lengte kationselectieve kanalen kunnen vormen na integratie in het celmembraan. Deze kanalen verstoren de cellulaire calcium homeostase, wat leidt tot de activatie van moleculaire signalen die uiteindelijk celdood initiëren. In recent in-vitro onderzoek met gepreïncubeerd  $\beta$ -amyloid werd een grote en langdurige depolarisatie van neuronen waargenomen (Blanchard *et al.*, 2002). Mogelijk is hier sprake van een interactie van  $\beta$ -amyloid met glutamaterge receptoren.  $\beta$ -amyloid zou op deze wijze neuronale hyperexcitabiliteit kunnen veroorzaken. Ikegaya *et al.* (2002) vonden dat  $\beta$ -amyloid in staat is de opnamecapaciteit van glutamaat door astrocyten te verhogen. Dit had tot gevolg dat de glutamaterge synaptische activiteit van neuronen, die in dezelfde cultuur als deze astrocyten gehouden werden, drastisch verlaagd werd. Dit zou kunnen wijzen op een verband tussen  $\beta$ -amyloid en het falen van synaptische activiteit in AD.

Eén van de meest algemeen gevonden verschijnselen in  $\beta$ -amyloid pathologie is *oxidatieve stress* (Miranda *et al.*, 2000). Sommige onderzoekers denken dat het hier om een epifenomeen gaat, ook omdat de door amyloid-beta veroorzaakte cellulaire schade in neuronale in-vitro culturen niet kon worden voorkomen door het toedienen van anti-oxidanten (Yao *et al.*, 1999). Het is echter waarschijnlijk dat de effectiviteit van anti-oxidanten onder de specifieke condities van dit onderzoek minimaal was. In studies met diersmodellen voor  $\beta$ -amyloid-geïnduceerde dementie is wel een beschermend effect gevonden van anti-oxidanten (Yamada *et al.*, 1999). Melo *et al.* (2003) rapporteren bewijs voor een mogelijke directe relatie tussen  $\beta$ -amyloid en de cholinerge stoornissen die geïmpliceerd zijn als een centraal mechanisme in de pathologie van AD. In dit onderzoek werd, na in-vitro blootstelling van netvliescellen aan een synthetisch  $\beta$ -amyloid peptide, een verhoogde activiteit van acetylcholinesterase gevonden.

Acetylcholinesterase is een enzym dat zorg draagt voor het inactiveren van acetylcholine in de synapsen. Excessieve activiteit van acetylcholinesterase zou de werking van het cholinerge

neurotransmittersysteem kunnen verstoren. Melo *et al.* weten de verhoogde activiteit aan een door oxidatieve stress gemedieerd mechanisme. Santiard-Baron *et al.* (2001) vonden bewijs voor extensieve cellulaire DNA schade als gevolg van  $\beta$ -amyloid blootstelling in menselijke preneuronale cellen. Dit onderzoek lijkt te impliceren dat een eerste stap in de pathogene  $\beta$ -amyloid cascade bestaat uit genotoxische stress-effecten. Eerdere observaties van verhoogde DNA-schadeniveaus in AD patiënten ondersteunen dit model, maar nog onduidelijk is hoe de effecten zich verhouden tot de diverse pathologische stadia (Santiard-Baron *et al.*, 2001).

### 3.3.2 Apolipoproteïne E

Het eiwit apolipoproteïne E (ApoE) is waarschijnlijk een mediërende factor bij receptoropname en ruiming van  $\beta$ -amyloid peptiden. Een specifieke mutatie van ApoE, het e4 allel, is gelinkt met genetische predispositie voor de ziekte van Alzheimer (Evin en Weidemann, 2002). Ogenscheinlijk in tegenspraak met deze vindingen zijn de resultaten van een onderzoek met transgene muizen, waarbij een amyloide plaques vormend genotype werd gekruist met een ApoE knock-out lijn. Het resulterende genotype vertoonde geen plaquevorming. Een mogelijke verklaring is dat aanwezigheid van ApoE de afbraak van  $\beta$ -amyloid zou voorkomen.

### 3.3.3 Tau eiwit en tauopathie

Het tau-eiwit is een belangrijke component van het cytoskelet in neuronen en wordt verondersteld betrokken te zijn bij de vorming en stabilisatie van microtubuli, die de neuronale integriteit intact houden. Het tau-eiwit zou verder van belang kunnen zijn voor de positionering van cel organellen en het structureel polariseren van neuronen in axon en dendriet compartimenten (Brandt, 1996). Met tauopathie wordt de accumulatie van het eiwit tau in het cytoplasma van neuronen en gliale cellen aangeduid, zoals die onder andere wordt gevonden in de neurofibrillaire tangles van Alzheimer-type dementie.

In de hersenen komen verschillende isovormen van tau voor die gegenereerd worden door alternatieve RNA splicing<sup>8</sup>. De meest relevante verschillen tussen deze isovormen geven aanleiding tot verschillen in de microtubuli-bindingseigenschappen van het eiwit. In de normale situatie bestaat er een balans tussen deze isovormen, maar ten gevolge van mutaties in een niet-coderende sequentie van het tau-gen kan de alternatieve splicing gewijzigd worden. Hierdoor ontstaat er een overmaat aan een vorm van tau die verminderde affiniteit met de microtubuli vertoont. Ook mutaties in de coderende sequenties kunnen leiden tot vormen van tau met verminderde microtubuli-affiniteit (Rizzu *et al.*, 1999). Ten gevolge van de verminderde associatie met de microtubuli stijgt de concentratie van vrije tau eiwitten in het cytoplasma. Hyperfosforylatie van tau leidt vervolgens tot accumulatie in onoplosbare aggregaten, zodat er sprake is van tauopathie, zoals dit waargenomen wordt in frontotemporale dementie en in de neurofibril tangles van AD en andere neurodegeneratieve aandoeningen (Rizzu *et al.*, 1999). Verhoogde expressie van het tau gen is eveneens een mogelijke oorzaak van tauopathie. Deze verhoging is onder andere aangetroffen in de hersenen van patiënten met een speciaal type amyotrofe laterale sclerose waargenomen op het eiland Guam, en wordt geweten aan een toxine afkomstig uit de cycaden die de inwoners gebruiken voor voedselbereiding (Esclaire *et al.*, 1999). Ook endogeen glutamaat kan de tau mRNA expressie moduleren. Tauopathie door overexpressie wordt tevens gezien als een mogelijke oorzaak van Parkinson met dementie.

Experimenten met cellen uit de hippocampus wijzen op een relatie tussen amyloid fibrillen en een cascade van moleculaire signalen die de aanzet geven tot hyperfosforylatie van tau (Maccioni *et al.*, 2001). Extracellulaire ophoping van amyloide proteïnen kan een deregulerende invloed hebben op het proteïne kinase Cdk5, hetgeen resulteert in hyperfosforylatie van tau.

---

<sup>8</sup> RNA splicing is in eukaryote organismen het proces waarbij intronen (niet-coderende sequenties) worden verwijderd uit de RNA transcripts van genen.

### 3.3.4 Proteïne aggregatie

Aggregatie van proteïnen in dicht opeengepakte filamenteuze netwerken is een karakteristiek kenmerk van de meeste leeftijdsgelateerde neurodegeneratieve aandoeningen, waaronder de ziekte van Alzheimer en tauopathieën. In spongiforme encephalopathieën is er sprake van ophopingen van prion-eiwitten. (Díaz-Nido *et al.*, 2002). Zodoende is er sprake van een viertal families van peptiden, de prion-, tau-, amyloïde en  $\alpha$ -synucleïne eiwitten, die filamenteuze aggregaties kunnen vormen. Een belangrijke recente vinding werpt mogelijk nieuw licht op de overeenkomsten tussen deze proteïne-aggregerende pathogene mechanismen: bij al deze vormen van proteïne-afzetting lijken glycosaminoglycanen<sup>9</sup> betrokken bij de filamenteuze aggregatie (Díaz-Nido *et al.*, 2002; Cohlberg *et al.*, 2002). Deze factoren zouden een rol kunnen hebben bij zowel accumulatie en polymerisatie van de proteïne-aggregaten, als in bescherming tegen toxische activiteit. Er is nog weinig bekend over de veroorzaking van deze proteïne-aggregaties.

In-vivo onderzoek heeft uitgewezen dat de pathologische aggregatie geassocieerd met de  $\beta$ -amyloid en prion-eiwitten ook exogeen geïnduceerd kan worden. Het mechanisme hierachter is evenwel nog grotendeels onbekend (Walker *et al.*, 2002).

### 3.3.5 Excitotoxiciteit

Excitotoxinen zijn biochemische substanties, meestal aminozuren of analoge stoffen dan wel derivaten, die in staat zijn een reactie aan te gaan met gespecialiseerde receptoren van neuronen, de glutamaat receptoren, in het brein of ruggenmerg, op zodanige wijze dat ze beschadigingen of sterfte veroorzaken in een wijde variatie van neuronen. Excitotoxiciteit wordt algemeen verondersteld een rol te spelen bij het selectieve verlies van neuronen in een scala van neurodegeneratieve aandoeningen. Excitatorische aminozuren, waaronder glutamaat en aspartaat<sup>10</sup>, zijn waarschijnlijk belangrijke mediators van uiteindelijke neuronale dood ten gevolge van neurotoxische schade (Dawson *et al.*, 1995). Oxidatieve stress, mitochondriaal energiemetabolisme en verstoring van de calcium homeostase zijn mogelijke leeftijdsgelateerde factoren die kunnen bijdragen aan neurotoxische kettingreacties die leiden tot excessieve afgifte van excitotoxische aminozuren. Gesuggereerd is dat dergelijke effecten een predispositie kunnen veroorzaken voor gevoeligheid voor neurotoxinen in de omgeving in het verouderde zenuwstelsel (Dawson *et al.*, 1995).

Een onderzoek naar excitotoxische processen in de ziekte van Alzheimer suggereerde dat defecten in cellulaire transporteiwitten toxische niveaus van extracellulair glutamaat kunnen veroorzaken (Dodd PR, 2002). Experimentele modellen van de ziekte van Huntington, en PD, wezen op een leeftijdsgelateerde verhoogde gevoeligheid voor excitotoxische effecten in deze aandoeningen (Dawson *et al.*, 1995). Tevens zijn de excitatorische aminozuren glutamaat en aspartaat aangewezen als factoren in de veroorzaking van neurodegeneratieve posttraumatische schade (Hong *et al.*, 2001). De concentratie van deze aminozuren in cerebrale vloeistof bleek significant te stijgen in patiënten die geen of slecht herstel toonden na acuut hoofdtrauma.

**Er is echter nog weinig ondersteuning voor de hypothese dat exogene (van buitenaf komende) excitotoxinen zelf een primaire causale factor zouden zijn in neurodegeneratieve aandoeningen. Zowel glutamaat agonisten als energiemetabolisme verstorende factoren kunnen permanente schade veroorzaken, maar deze pathologische verschijnselen zijn gewoonlijk niet progressief (Spencer *et al.*, 1992).**

<sup>9</sup> De glycosaminoglycanen (GAG) vormen een groep van polysacchariden opgebouwd uit herhaalde disaccharide eenheden van aminosuiker derivaten (Lawrence, 1999).

<sup>10</sup> Glutamaat en aspartaat komen, aan proteïne gebonden, voor in tal van voedingsmiddelen. In vrije en volgens sommigen in meer biologisch beschikbare vorm, zitten ze in bekende smaakmakers als MSG en aspartaam.

### 3.3.6 Ontsteking en activatie van microglia

Er is toenemend bewijs voor een centrale rol van een ontsteking in de hersenen bij de pathogenese van verscheidene neurodegeneratieve aandoeningen, waaronder de ziekte van Parkinson, AD, en andere dementie typen (Liu *et al.*, 2002). Ontsteking in het brein wordt gekarakteriseerd door activatie van de astrocyten en microglia. De microglia produceren, ten gevolge van activatie door onder andere ontstekingsinducerende cytokinen, diverse ontstekingsbevorderende en neurotoxische substanties, zoals cytokinen, vetzuur metabolieten en vrije radicalen, waaronder stikstofmonoxide en superoxide.

Productie van vrije radicalen kan eveneens plaatsvinden in neuronen, zoals bij hyperactivatie door glutamaat en disfunctie van de mitochondriën. Ook activatie van de microglia door  $\beta$ -amyloid, neurale plaques en andere neurofibrillaire accumulaties zijn als oorzaak aangewezen (McGeer en McGeer, 1998). Interacties tussen astrocyten, microglia en neuronen vormen complexe kettingreacties. De vrijkomende toxische factoren kunnen direct bijdragen aan neurodegeneratieve processen, of indirect, door verergering van de ontstekingscascade.

Proteïnen in de complement-activatie cascade van het ontstekingsproces hebben mogelijk zowel neuroprotectieve als toxiciteits-bevorderende effecten. Zo is het anaphylatoxine C5a geassocieerd met bescherming tegen excitotoxische schade, zowel in-vitro als in-vivo (Mukherjee en Pasinetti, 2000). Daarentegen suggereert onderzoek naar de interactie tussen ontstekingsprocessen en de pathologie van AD dat bepaalde complement proteïnen de accumulatie en toxiciteit van  $\beta$ -amyloid bevorderen, en een rol kunnen hebben in initiatie van de apoptotische cascade. Ondanks het feit dat in een aantal studies hoopgevende resultaten zijn bereikt met ontstekingsremmende therapieën in de bestrijding van de progressie van AD (McGeer en McGeer, 1998), wordt deze benaderingswijze gecompliceerd door de duale rol van de complement factoren.

Een belangrijke factor in gliale activatie en ontstekingsrespons is het signaaleiwit interleukine-1 (IL-1). Verhoogde niveaus van IL-1 zijn sterk geassocieerd met neurodegeneratie volgend op een hersenberoerte, AD en multiple sclerose. Antagoniseren van IL-1 blijkt tot sterk verminderen activatie van microglia en fagocytose te leiden (Basu *et al.*, 2002).

### 3.3.7 Vasculaire schade en veranderde bloedtoevoer

De mogelijke bijdrage van cerebrovasculaire gebreken aan neurodegeneratieve pathologie is in de laatste jaren het onderwerp van aanzienlijke wetenschappelijke belangstelling geworden. Verminderde bloedtoevoer naar het brein en aantasting van de microvasculaire integriteit in de corticale regionen zijn voorbeelden van stoornissen die een belangrijke bijdrage kunnen leveren in de keten van neurodegeneratieve processen. In het normale verouderingsproces wordt een verminderde cerebrale doorbloeding waargenomen, die samenhangt met vasoconstrictie of verminderde vasodilatierespons, waarschijnlijk ten gevolge van stoornissen in de cerebrovasculaire regulatorische stelsels (Farkas en Luiten, 2001). Verminderde cerebrale doorbloeding resulteert in verminderde glucose opname, waardoor het cerebrale metabolisme afneemt, leidend tot verlaagde cognitieve prestaties en neuronale schade. In samenhang hiermee worden veranderingen op morfologisch niveau waargenomen, met name in de capillaire dichtheid en de ultrastructuur van capillaire wanden.

Een karakteristieke afname van cerebrale doorbloeding wordt algemeen waargenomen in patiënten met de ziekte van Alzheimer, met een meest consistente verandering in de temporale en pariëtale cortices (Elgh *et al.*, 2002; Farkas en Luiten, 2001). Voorts suggereren correlatie-analyses een duidelijk verband tussen cognitieve status van AD-patiënten en bloeddorstoming in een aantal specifieke corticale en subcorticale gebieden, waaronder de frontale en temporo-pariëtale regionen. Dit gegeven lijkt te impliceren dat neuronale schade toeneemt met verminderde neuronale doorstroming in AD, een hypothese die ondersteund wordt door data uit experimenten met diermodellen van AD, waarin bloedtoevoer naar het brein is afgeknepen.

Neurodegeneratieve syndromen geassocieerd met cardiovasculaire pathologie, zoals infarcten en verminderde hersenweefseldoorbloeding, worden vaak gelabeld onder de term 'vasculaire dementie'. Het gaat hier echter om een zeer veelvormig ziektebeeld, met een gebrek aan absolute standaards voor diagnose (Chui, 2000). In veel gevallen is er sprake van comorbiditeit en interactie met andere neurodegeneratieve symptomen. Chui (2000) stelt om deze redenen een categorisatie voor die zich meer richt op onderliggende mechanismen van ischemische hersenschade, die zich onafhankelijk van of juist in samenhang met de symptomen van vasculaire dementie kunnen voordoen. Schmidt et al. (2002) vonden een associatie tussen markers voor ontsteking en vasculaire dementie, en rapporteerden aanwijzingen dat de ontsteking waarschijnlijk gerelateerd was aan vasculaire schademechanismen.

### 3.3.8 Oxidatieve stress

Schade veroorzaakt door vrije radicalen in weefsels wordt aangeduid met de term oxidatieve stress (OS). De bronnen van vrije radicalen kunnen zowel extrametabolisch als metabolisch zijn. Extrametabolische bronnen zijn bijvoorbeeld vervuiling, straling of toxinen (Ahmad, 1995; Ercal *et al.*, 2001). De meest significante metabolische productie veroorzaakt wordt door bijproducten zoals superoxide ( $O_2^-$ ) in het mitochondriale elektronentransport. In dit laatste geval kan onder andere hydroxyl radicaal vrijkomen, één van de schadelijkste pro-oxidanten. Een ander belangrijke metabolische vrije radicaal is het stikstofmonoxide-radicaal ( $NO^\bullet$ ), dat geassocieerd is met verschillende cytotoxische mechanismen.

Het lichaam heeft een aantal beschermende factoren tegen vrije radicaal-schade. Superoxide dismutase, catalase, een familie van enzymen bekend als de peroxidases zijn in staat overvloedige superoxides en waterstofperoxide te verwijderen. Ook glutathion, vitamine E en ascorbinezuur functioneren als beschermende elementen tegen oxidatieve schade. Hiernaast beschikken weefsels over diverse enzymen en antioxidanten om vrije radicaal-schade te herstellen in DNA, eiwitten en lipiden (Joseph *et al.*, 1998).

Er zijn aanwijzingen dat dit herstel van oxidatieve schade achteruitgaat met het vorderen van de leeftijd (Joseph *et al.*, 1998). Hoewel er weinig onderzoek is gedaan naar verhoging van de gevoeligheid voor oxidatieve stress bij normale veroudering, is er wel overtuigend bewijs voor een rol van oxidatieve stress bij cellulaire veroudering en leeftijdsgelateerde ziektes zoals kanker en cardiovasculaire ziekte.

Omdat het centrale zenuwstelsel relatief grote hoeveelheden zuurstof gebruikt, en een vergeleken met andere weefsels verminderde vrije radicaal-opruiming vertoont, is het heel goed mogelijk dat het een verhoogde gevoeligheid heeft voor oxidatieve stress. Veroudering van het brein is gecorreleerd met veranderingen in de homeostase van calcium in neuronen (Toescu en Verkhratsky, 2000), wat de kans op inductie van celdood zou kunnen verhogen, door depolarisatie van het mitochondriaal membraan en productie van pro-oxidanten (Sastry en Rao, 2000).

Verder is er toenemend bewijs voor de hypothese dat oxidatieve stress in belangrijke mate bijdraagt aan de pathofysiologie van leeftijdsgelateerde neurodegeneratieve aandoeningen zoals AD en de ziekte van Parkinson. Oxidatieve stress is in verband gebracht met dopaminerge neurotoxiciteit in onder andere het syndroom van Parkinson (Obata, 2002). Defecten in het mitochondriale complex I zijn geassocieerd met verhoogde oxidatieve stress in de ziekte van Parkinson. Inhibitie van dit complex door onder andere pesticiden had een vergelijkbaar effect in diermodel studies (Sherer *et al.*, 2002).

Een verhoogde oxidatieve stress is ook geassocieerd met de ziekte van Alzheimer (Miranda *et al.*, 2000). Volgens een hypothese neemt het eiwit  $\beta$ -amyloid deel aan een metaalgekatalyseerde reactie, waarbij vrije radicalen ontstaan. De hiertoe benodigde transitietalen, waaronder aluminium en ijzer, zijn in verhoogde mate aangetroffen in de hersenen van Alzheimer patiënten. Accumulaties van deze transitietalen in amyloide plaques vormen waarschijnlijk een primaire bron van de waargenomen verhoogde vrije radicaal productie in AD (Miranda *et al.*, 2000). Omgekeerd is in transgene muizen waargenomen dat depositie van  $\beta$ -amyloid in plaques geassocieerd was met redox-actief ijzer en biomarkers van oxidatieve schade. In in-vitro studies is bewijs gevonden voor verhoogde aggregatie van  $\beta$ -amyloid in de aanwezigheid van lage

concentraties van ijzer, aluminium en zink (Kawahara *et al.*, 2001; Mantyh *et al.*, 1993). Experimenteel geïnduceerde verstoringen in de homeostase van koper en zink blijken het metabolisme van het amyloid precursor eiwit (APP) te veranderen. Dit impliceert complexe interacties tussen transitie-metalen,  $\beta$ -amyloid bij de veroorzaking van oxidatieve stress (Multhaup *et al.*, 2002).

Bêta-amyloid, gebonden aan koper, is in staat waterstofperoxide te produceren, door gebruik van biologische reducerende substraten zoals dopamine, cholesterol en vitamine C. In vergelijkbare condities kan deze productie niet optreden wanneer  $\beta$ -amyloid ontbreekt (Opazo *et al.*, 2002).

Deze bevindingen suggereren dat de neurotoxiciteit van  $\beta$ -amyloid onder andere tot uitdrukking komt door gekatalyseerde productie van waterstofperoxide, en uitputting van de daarbij benodigde reducerende substraten. Recent onderzoek door Butterfield en Kanski (2002) werpt mogelijk licht op een mechanisme achter deze reacties met  $\beta$ -amyloid, aangezien het methionine residu op positie 35 in het eiwit noodzakelijk blijkt voor vrije radicaal productie.

De vervroegde aanvang van de ziekte van Alzheimer in individuen met het Down syndroom wordt geweten aan defecten in het mitochondriale complex I. Mutaties in de vele genen gerelateerd met mitochondriale functie kunnen eveneens leiden tot verhoogde superoxide productie, wat een mogelijke oorzaak vormt van niet-familiale AD. Ook ontregeling van de calcium homeostase kan een stimulerend effect hebben op superoxide productie door de mitochondriën (Harman, 2002).

### 3.3.9 Opening van ionkanalen

De kanaal hypothese van de ziekte van Alzheimer stelt voor dat  $\beta$ -amyloid peptides ion-kanalen kunnen vormen in het celmembraan van neuronen en hierdoor neuronen beschadigen of doden. In-vitro onderzoek ondersteunt deze hypothese, en toont aan dat deze kanalen weinig selectief, voltage-onafhankelijk en heterogeen in grootte zijn (Kagan *et al.*, 2002). Transport van calcium-ionen is funest voor de calcium homeostase, en is waarschijnlijk een belangrijk cytotoxisch effect van  $\beta$ -amyloid. Ook natrium-, kalium-, cesium- en lithium-ionen kunnen doorgelaten worden door deze ionkanalen, en een versturende werking hebben op de cellulaire calciumhomeostase.

### 3.3.10 Inductie van apoptose

Celdood kan hoofdzakelijk verlopen via twee wegen, *necrose* en *apoptose*. Bij necrose is er sprake van een weinig gereguleerde degeneratie van de cel, veelal gekenmerkt door de vorming van tubulaire laesies in het plasmamembraan. Apoptose daarentegen is een geprogrammeerde vorm van celdood, die via een complex netwerk van signalen, inducerende factoren en proteïne interacties uiteindelijk leidt tot gecontroleerde afbraak van de celcomponenten (Atroschi *et al.*, 2000).

Cellulaire schade is de voornaamste inducerende factor voor apoptose, en neemt voornamelijk twee vormen aan: schade aan DNA of andere belangrijke cellulaire doelwitten veroorzaakt door toxische chemicaliën of ander trauma, en activatie of inactivatie van receptoren door signaalfactoren in de groeiregulatie (Atroschi *et al.*, 2000). Voorbeelden van stimuli die kunnen leiden tot initiatie van apoptose zijn: toxinen, vrije radicalen, straling, stikstofmonoxide, cytokinen en hitte. Veel apoptose-inducerende factoren zijn ofwel oxidanten, ofwel stimulators van oxidatieve metabolismen (Atroschi *et al.*, 2000).

De mitochondria zijn van grote betekenis in de initiatie en regulering van apoptose. Bij de aanvang van apoptose komen een aantal apoptogenetische factoren vrij uit de mitochondria, waaronder verscheidene caspases en cytochroom c (Gorman *et al.*, 2000). Apoptose, of verhoogde gevoeligheid daarvoor, kan geïnduceerd worden door veranderingen in ATP productie door de mitochondria.

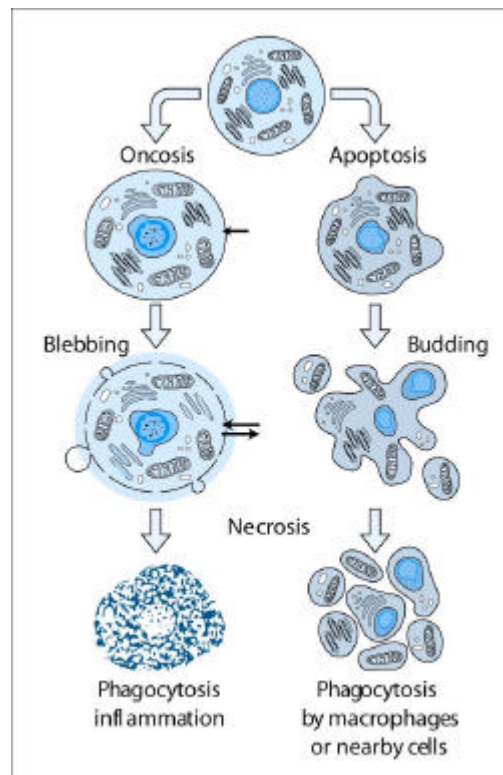
Apoptose is een cruciaal mechanisme voor de opruiming van lichaamscellen die schade hebben opgelopen aan DNA, mitochondria, eiwitten of membranen. Het handhaven van fenotypische integriteit in het organisme is afhankelijk van apoptotische regulatie. Accumulatie van schade aan DNA bij het verouderingsproces, of door genotoxische factoren, leiden normaal gesproken tot



inductie van de apoptotische cascade en afbraak van de aangetaste cel. In weefsels met relatief ongedifferentieerde celtypen of stamcelcompartimenten, kan de afgebroken cel vervolgens vervangen worden. In de hersenen echter zijn geen of weinig stamcelcompartimenten beschikbaar, en neuronen zijn terminaal gedifferentieerde celtypen. Hoge gevoeligheid voor apoptose inducerende factoren kan de levensduur van het brein dus beperken door cumulatieve celdood. Verlaagde gevoeligheid voor apoptose in elk weefsel echter leidt tot tolerantie voor DNA schade en moleculaire aberraties. Zo kunnen zowel factoren die de apoptotische gevoeligheid verminderen, als factoren die de gevoeligheid verhogen, een degeneratief effect hebben, afhankelijk van het weefseltype.

De inductie van apoptose en regulatie van de apoptotische cascade is een complex systeem waar diverse genen bij betrokken zijn. In aanmerking nemende het feit dat de meeste typen DNA schade, zoals die geassocieerd zijn met veroudering en genotoxische substanties, zich met even grote waarschijnlijkheid in het gehele genoom voordoen, zullen ook de apoptose regulerende genen zelf aangetast kunnen worden. Er is voorgesteld dat tijdsafhankelijke degeneratie van het apoptotische mechanisme een uiteindelijke limiet stelt aan het verouderingsproces (Tomei en Umansky, 1998). Als de tolerantie van verouderde cellen voor apoptose-inducerende signalen, zoals bijvoorbeeld schade door oxidatieve stress, toeneemt, zullen cellulaire defecten accumuleren en progressieve degeneratieve mechanismen zoals ontstekingsprocessen minder snel afgebroken worden.

Mogelijk van groot belang is de observatie dat uitschakeling van het mechanisme van geprogrammeerde celdood een vereiste stap is in de carcinogene transformatie van cellen (Tomei *et al.*, 1988). Niet alleen is dit noodzakelijk om de oncogeen gemuteerde cel te weerhouden van apoptose, maar de verhoogde tolerantie voor mutaties op zich faciliteert waarschijnlijk de vorming van oncogene mutaties in de niet-getransformeerde cel. Dit maakt het aannemelijk dat naast de vorming van oncogene mutaties, een significant effect van genotoxische carcinogene substanties bestaat uit de verlaging van apoptotische regulatie, met progressieve gegeneraliseerde cellulaire degeneratie als gevolg.



**Figuur 3: apoptose en oncosis zijn de twee algemeen herkende vormen van celdood. (Bron: Schnellmann en Kelly, 1999)**

### 3.3.11 Aantasting van de bloed-hersenbarrière

Het verouderingsproces, en bepaalde ziektebeelden, leiden tot verhoogde kwetsbaarheid van de bloed-hersen barrière voor endogene en exogene schadelijke factoren (Zheng, 2001).

Neurotoxische chemicaliën zijn geïmpliceerd in de aantasting van de barrière, maar concrete gegevens hierover zijn vooralsnog schaars. Er is wel groeiend bewijs voor associaties tussen aantasting van de bloed-hersen barrière en een aantal neurodegeneratieve syndromen (Zheng, 2001).

### 3.3.12 Cholinerge deficiëntie

Zowel bij de ontwikkeling van Parkinson- als AD-type dementie wordt cholinerge degeneratie in het basale voorbrein aangetroffen (Tran *et al.*, 2002; McKeith en Burn, 2000). Stoornissen in het cholinerge neurotransmittersysteem zijn een kenmerk van alle subtypen dementie (Grantham en Geerts, 2002).

Excessieve afbraak van choline door acetylcholinesterase-afbraak als gevolg van verhoogde oxidatieve stress is een voorgestelde oorzaak hiervan in AD (Melo *et al.*, 2003).

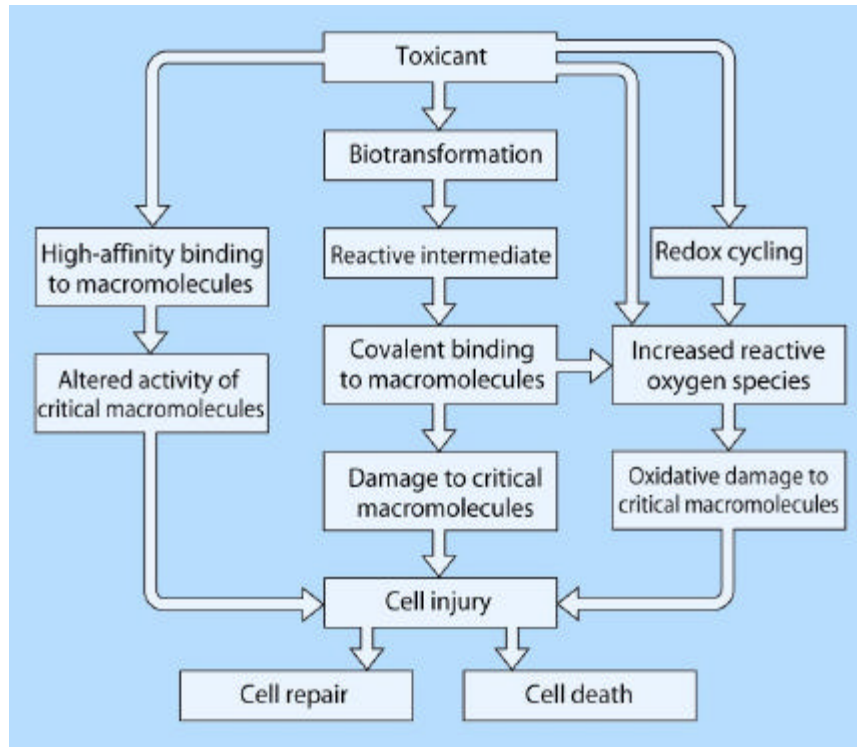
Geula *et al.* (2003) vonden een leeftijdsgerelateerde afname van een calciumbindend eiwit, calbindin-D, in cholinerge neuronen van het basale voorbrein. Waarschijnlijk betekent dit dat de calciumbufferingscapaciteit van cholinerge neuronen in oudere individuen afneemt, waardoor de gevoeligheid voor neurodegeneratieve processen wordt verhoogd.

Afname van de activiteit van choline acetyltransferase, het choline synthetiserend enzym, is een ander mogelijk mechanisme achter cholinerge deficiëntie. Verschillende typen corticale laesies kunnen een dergelijke verlaagde activiteit veroorzaken (Zuo *et al.*, 2002; Elliott *et al.*, 1989).

### 3.3.13 Discussie

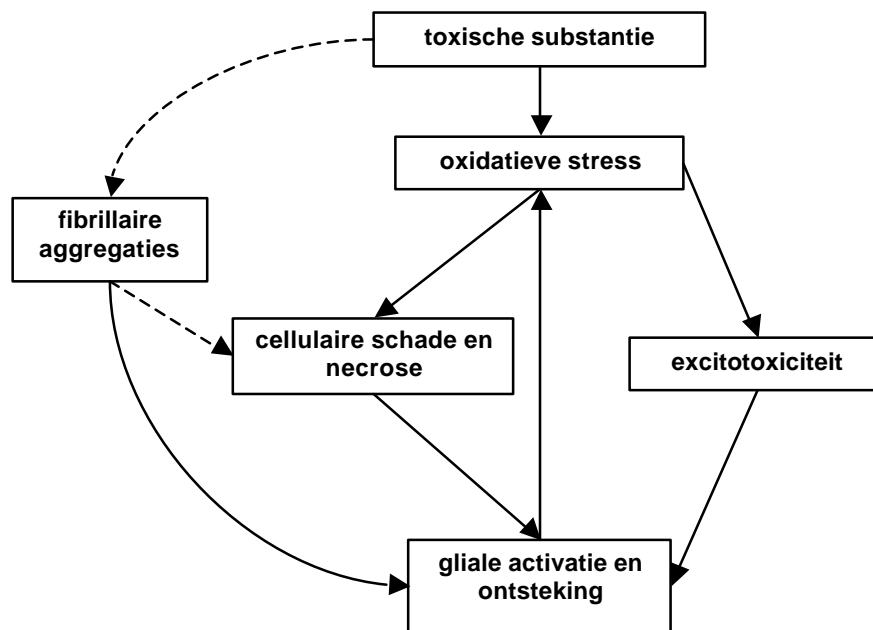
De pathofysiologische mechanismen die gerelateerd zijn aan de verschillende subtypen van neurodegeneratieve dementie vertonen op veel punten overlap of interactie. Hersentrauma en proteïne aggregaties (McGeer en McGeer, 1998) kunnen leiden tot ontsteking en activatie van microglia. De geactiveerde gliale cellen produceren vrije radicalen en andere oxidatieve stress-verhogende factoren. Oxidatieve stress is een factor die geïmpliceerd is in de veroorzaking van onder andere cholinerge deficiëntie (Melo *et al.*, 2003) en excitotoxiciteit (Dawson *et al.*, 1995). Excitotoxiciteit kan weer een ontstekingsinducerende werking hebben. Een overzicht van een aantal mogelijke interacties tussen de in dit hoofdstuk besproken pathofysiologische factoren is weergegeven in figuur 5.

Voor de vraagstelling in hoeverre exogene chemicaliën kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van neurodegeneratieve pathologie, is het van belang te analyseren op welke punten dergelijke chemicaliën kunnen aangrijpen op de betrokken pathofysiologische mechanismen. Verhoging van oxidatieve stress zou hier een belangrijk proces kunnen zijn, gezien de rol die zij lijkt te kunnen spelen in zelfinducerende schademechanismen (Dawson *et al.*, 1995). Bewijs is gevonden voor verhoging van oxidatieve stress door diverse exogene factoren en omgevingsvervuiling (Ahmad, 1995; Ercal *et al.*, 2001). Toxische factoren kunnen oxidatieve stress induceren door directe redox-activiteit, of door reactie met cellulaire componenten (zie figuur 4). Relaties tussen verhoogde oxidatieve stress en neurodegeneratieve dementie zijn in meerdere studies aangetroffen (Obata, 2002; Sherer *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, 2000; Harman, 2002). Er is bovendien reden om te veronderstellen dat de kwetsbaarheid voor oxidatieve stress toeneemt met ouderdom (Joseph *et al.*, 1998).



**Figuur 4: oxidatieve stress en schade aan macromoleculen (zoals eiwitten) als mediators voor toxische cellulaire schade. (Bron: Schnellmann en Kelly, 1999)**

Andere potentiële punten waarop exogene interactie mogelijk is, zijn excitotoxiciteit (Sherer *et al.*, 2002), cholinerge stoornissen (Hartman, 1995a), facilitatie van proteïne aggregatie (o.a. Parbhu *et al.*, 2002), en mogelijk aantasting van de bloed-hersens barrière (Zheng, 2001). Kilburn (1998c) ontwikkelde een theorie voor progressieve neurale schade als gevolg van eenmalige toxische blootstelling. Volgens zijn speculatie zouden astrocyten het primaire kwetsbare punt voor toxische neurodegeneratieve schade vormen. Aantasting van de astrocyten zou ten koste gaan van hun beschermende rol ten aanzien van neuronen, en zodoende leiden tot versnelde celdood. Tegelijk echter zijn astrocyten verantwoordelijk voor de opslag van bij neurale celdood vrijkomende toxinen en afvalproducten, zodat een vicieuze cirkel van toxische schade kan ontstaan.



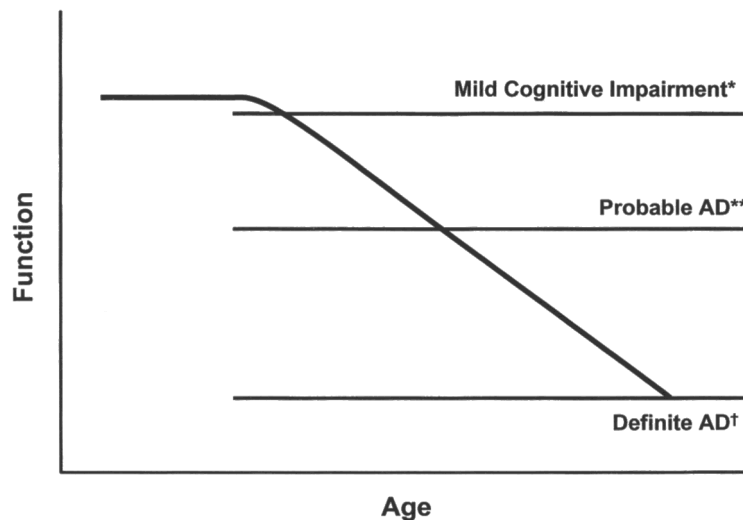
**Figuur 5: speculatieve interacties tussen oxidatieve stress-gerelateerde pathofysiologische mechanismen**

### 3.4 Heterogeniteit en overlap van ziektebeelden

Vooraf in de eerste stadia van vele typen neurodegeneratieve dementie kan het maken van een betrouwbare diagnose moeilijk zijn. Zoals besproken is zijn vele pathologische processen niet uniek voor één type dementie, en een aantal hiervan wordt in vergelijkbare mate, en met een vergelijkbare distributie, aangetroffen in het normale verouderingsproces. De indeling van neurodegeneratieve ziektebeelden berust momenteel grotendeels op verschillen tussen pathofysiologische processen waarvan de exacte causale mechanismen veelal onopgehelderd zijn. De verscheidenheid aan mechanismen wijst op combinaties van risicofactoren die een rol kunnen spelen bij de ontwikkeling van neurodegeneratieve ziektebeelden. In het bijzonder wordt in dit verslag belicht in welke mate neurotoxische chemicaliën geassocieerd kunnen zijn met progressieve neurodegeneratieve aandoeningen, met name de ziekte van Alzheimer. Een aantal neurodegeneratieve ziektebeelden wordt veelal aangetroffen als co-morbide factor, zoals vasculaire stoornissen. Uit recente klinische en epidemiologische gegevens blijkt bijvoorbeeld dat bij AD-type dementie vaak laesies voorkomen die gerelateerd zijn aan cerebrovasculaire pathologie, en de effecten hiervan lijken de stoornissen geassocieerd met milde AD te kunnen versterken (Jellinger, 2002). De fysiologische achtergronden van deze overlappende ziekteprocessen zijn grotendeels onafhankelijk, zoals blijkt uit het gebrek aan correlatie tussen de distributie van plaques en vasculaire laesies, maar het gecombineerde effect kan op synergistische wijze de cognitieve achteruitgang beïnvloeden. Tevens blijkt de ontwikkeling van de dementie in een vroeg stadium bevorderd te kunnen worden door de cerebrovasculaire pathologie.

Tussen AD en de ziekte van Parkinson wordt eveneens veel overlap waargenomen. De grote meerderheid van Parkinson patiënten vertoont een hoge mate van NFT en seniele plaque ontwikkeling naast de karakteristieke Lewy lichaampjes en nigrostriatale degeneratie, en velen ontwikkelen uiteindelijk dementie. Omgekeerd wordt in een significant percentage van AD patiënten de voor Parkinson kenmerkende extrapyramidale pathologie waargenomen (Perl *et al.*, 1998). Steeds minder worden overlappende neurodegeneratieve pathologieën gezien als onafhankelijke factoren, en in plaats daarvan ontwikkelt zich een beeld waarin deze co-morbide aandoeningen de ontwikkeling van het neurodegeneratieve traject modifieren (Morris, 2000).

De problematiek rond de diagnose van dementie heeft mogelijk invloed op ons beeld van normale veroudering. De algemene zienswijze is dat cognitieve functie onherroepelijk afneemt met het vorderen van de leeftijd, en dat oudere volwassen geleidelijk “seniel” worden. Dit beeld wordt echter niet ondersteund door klinische gegevens. Zo blijft een aantal vaardigheden, zoals primair geheugen en taken die berusten op grondig geleerde kennis, vrijwel constant bij toenemende leeftijd. De cognitieve veranderingen geassocieerd met gezonde veroudering kunnen minimaal en weinig hinderend zijn. In feite zou een groot deel van de waargenomen cognitieve afname die geweten wordt aan leeftijd symptomatisch kunnen zijn voor een zeer milde vorm van dementie (Morris, 2000).



**Figuur 6: stadia in functieverlies die gepaard gaan met pathologische veroudering van het AD-type. (Bron: Petersen, 2000)**

### 3.4.1 Risicofactoren

In risicoanalyse onderzoek is de relatie tussen leeftijd en ontwikkeling van Alzheimer-, en andere typen dementie, een opvallend consistente bevinding (Kukull en Ganguli, 2000; Hendrie, 1998). Over de precieze oorzaak, dan wel complex van oorzaken, hiervan bestaat nog grote onzekerheid. Een hypothese die mogelijk meer inzicht zou kunnen verschaffen, is dat het brein als gevolg van veroudering gevoeliger wordt voor diverse typen trauma, en dat neuronale degeneratie een onomkeerbaar proces is, waardoor de schade accumuleert (Horn en Cattell, 1996). Door de grote reserve-capaciteit en de aanwezigheid van noodvoorzieningen voor vele aspecten van hersenfunctie kunnen de degeneratieve symptomen pas laat tot uitdrukking komen, doordat zelfs significante schade in een vroeg stadium gecompenseerd kan worden (Stiles, 2000).

Er zijn genetische componenten geassocieerd met AD, maar de betrokken mutaties zijn zeer divers wat het waarschijnlijk maakt dat er sprake is van genetische heterogeniteit (Carr *et al.*, 1997). AD met vervroegde aanvang is sterk gecorreleerd met het syndroom van Down. Een verhoogde homocysteïne spiegel is een significante risicofactor voor ontwikkeling van dementie en AD (Seshadri *et al.*, 2002).

Meer speculatieve risicofactoren voor de ziekte van Alzheimer zijn (in arbitraire volgorde):

- vrouwelijk geslacht
- hoofdtrauma met verlies van bewustzijn
- kleine hoofdafmetingen
- lage scholing

- o tekort aan lichaamsbeweging
- o diabetes / hypoglycaemie / thyroïd ziekte
- o depressie
- o cardiovasculaire stoornissen

(Kukull en Ganguli, 2000; Hendrie, 1998)

De ziekte van Parkinson is sterk geassocieerd met genetische predispositie. Hiernaast zijn roken, cafeïne- en alcoholconsumptie, en diverse diëtaire elementen geopperd als risicofactoren voor PD (Gorell en Checkoway, 2001).

**De aandacht voor blootstelling aan chemicaliën en toxische substanties als risicofactor voor neurodegeneratieve aandoeningen in het algemeen is in het merendeel van het epidemiologisch onderzoek nog gering. In het kader van risicofactoren voor AD, is blootstelling aan onder andere toxinen, organische oplosmiddelen, zink, aluminium, elektromagnetische straling onderzocht. Hoewel associaties zijn gevonden, kunnen aan de hand van de uitkomsten van deze onderzoeken geen definitieve conclusies worden getrokken (Hendrie, 1998). Resultaten van lange-termijn onderzoek met zorgvuldig onderzochte populaties en omstandigheden beginnen echter beschikbaar te komen, en ook in-vitro onderzoek en studies met diermodellen van dementie maken vorderingen. Deze ontwikkelingen zullen in dit verslag besproken worden, volgend op een overzicht van de neurotoxische substanties die het meest in aanmerking komen voor een rol in neurodegeneratieve aandoeningen, en hoe de blootstelling plaats kan vinden.**



## 4 Neurotoxinen in de omgeving

### 4.1 Blootstellingspatronen

In het geval van toxische blootstelling binnen een werkomgeving, is over het algemeen meer bekend over de aard van de betrokken chemicaliën en het blootstellingspatroon dan bij de toxische chemicaliën die circuleren in ons milieu en woonomgeving. Van chemicaliën in de werkomgeving is meestal in elk geval oppervlakkige kennis over de aard van toxische effecten, en schadelijke concentratieniveaus, aanwezig. Eenmaal vrijgekomen in het milieu, zijn inschattingen over verspreiding en aard van een toxische belasting een veel gecompliceerdere taak. Metingen kunnen alleen plaatsvinden naar specifieke chemicaliën waarvoor detectiemethoden beschikbaar zijn, en vanwege fluctuaties in de achtergrondconcentratie en mogelijke interacties met andere chemicaliën en omgevingsfactoren is het veelal niet mogelijk een betrouwbare prognose te geven van blootstellingsrisico's (Feldman, 1998a). Het belangrijkste medium voor toxische blootstelling is luchtverontreiniging. Naast inademingsgevaar van chemicaliën in gassen, dampen en rookwalmen, kan luchtverontreiniging ook blootstelling via voeding bewerkstelligen. Neerslag van stoffen als dioxinen op gewassen is een belangrijke bron van toxinen in ons voedsel. Dit geldt met name voor persistente, bioaccumulatieve stoffen. Bepaalde organische substanties, de POP's (Persistent Organic Pollutants), kunnen erg lang circuleren in het milieu, en de meest vluchtige substanties worden soms op wereldschaal verspreid. Hierdoor worden POP's zelfs in het Poolgebied nog aangetroffen, duizenden kilometers van een potentiële bron (EEA, 1997). Accumulatie in grondwater, en distributie hierdoor, belast het milieu met toenemende hoeveelheden zware metalen en complexere POP's die nog lang na het oorspronkelijke gebruik circuleren. Chemicaliën in huishoudelijke producten, insecticiden en cosmetica vertegenwoordigen een minder voor de hand liggende, maar potentieel belangrijke, bron van toxische blootstelling. Relatief weinig onderzoek richt zich op toxische expositie in de huisomgeving.

### 4.2 Verspreiding van chemicaliën in de Europese omgeving

Europese inspanningen om uitstoot en distributie van chemicaliën in het milieu en de leef/werkomgeving te reduceren zijn in de laatste jaren sterk geïntensiveerd. De lidstaten sloten in 1998 een verdrag aangaande beperking van POP's, met bijzondere aandacht voor lange-afstands, grensoverschrijdende luchtvervuiling. Een wetsvoorstel, dat beoogt om ook de bestaande chemische stoffen te doen screenen op gezondheidsrisico's is in voorbereiding (Europese Commissie, 2003). Op dat moment liepen voorzichtige schattingen van het aantal in de EU op de markt gebrachte gefabriceerde chemicaliën op tot 100.000. Europa was in 1995 verantwoordelijk voor 38% van de totale wereldwijde chemische productie, die geraamd werd op 400 miljoen ton. Sinds 1993 is er sprake van een versnelling in chemische productie in de West-Europese naties, gemeten in verhouding tot de stijging in het bruto binnenlands product. In deze schattingen zijn de vele chemische bijproducten die vrijkomen bij industriële processen niet meegerekend (EEA, 1997).

Er is een groot tekort aan blootstellingsdata met betrekking tot milieu en volksgezondheid voor de zogenoemde hoog productievolume chemicaliën (HPVC). Voor de overige chemicaliën zijn deze data vrijwel niet aanwezig. De beschikbare gegevens vormen bovendien slechts in beperkte mate een indicatie van werkelijke verspreiding. Zo werd bijvoorbeeld uit een onderzoek naar riviersediment duidelijk dat chemische concentraties hierin tot een factor tien hoger liggen dan in rivierwater, waar metingen gewoonlijk plaatsvinden.

### 4.3 Toegangswegen naar het brein

De diverse routes waarlangs chemicaliën kunnen doordringen tot de hersenen, hebben een verschillende permeabiliteit voor bepaalde types toxinen, hetgeen verschillen in toxische



effectiviteit veroorzaakt. De effectiviteit neemt meestal af volgens de hiërarchie: direct weefselcontact, intraveneus, inademing, intraperitoneaal, subcutaan, intramusculair, intradermaal, oraal, dermaal (Spencer, 2000). De voornaamste route waarlangs omgevingschemicaliën doordringen tot de hersenen is via de longen. Na het inademen van een chemische damp of gas, passeert dit het alveolaire membraan in de longen en wordt opgenomen in de bloedbaan. Na het passeren van het hart wordt het van de longen afkomstige bloed getransporteerd naar de rest van het lichaam, en komt terecht in de halsslagader en het brein.

#### 4.3.1 Bloed-hersenbarrière

Het vasculaire compartiment is gescheiden van de extracellulaire vloeistof die het neurale weefsel van het brein omgeeft door oppervlakken van endotheelcellen. In de meeste delen van het brein zijn de endotheelcellen afgezet met astrocyten, die tight junctions induceren in het uitwisselingsoppervlak. Dit systeem vormt de *bloed-hersen barrière*, die de diffusie van toxinen naar het hersenweefsel belemmert. De permeabiliteit voor chemicaliën is voornamelijk een functie van polariteit, vetoplosbaarheid en molecuulgrootte. Zuurstof, kooldioxide, stikstofdioxide en andere gassen diffunderen snel in het hersenweefsel. Ionen en polaire moleculen, in vet onoplosbare stoffen, en polipeptiden vrijwel niet. In een aantal delen van het brein ontbreekt de bloed-hersen barrière, voornamelijk in de plexus choroidus en de circusventriculaire organen, waartoe neuroendocriene systemen zoals delen van de hypothalamus en hypofyse behoren (Spencer, 2000). Tevens kan lekkage van chemicaliën in de bloed-hersen barrière optreden ten gevolge van abnormaliteiten in metabolisme, bloeddrukregulatie, of door pathologische processen.

#### 4.3.2 Reukzenuw

Opname via de longen en bloedcirculatie is niet de enige manier waarop geïnhaleerde toxische substanties toegang tot de hersenen kunnen verkrijgen. Directe transductie van chemicaliën door het olfactorisch epitheel, naar de olfactorische zenuwen of de cerebrospinale vloeistof, is aangetoond met diverse nasaal geïntroduceerde substanties in proefdieren, en in onder andere fabrieksarbeiders blootgesteld aan cadmium (Brenneman *et al.*, 2000; Kilburn, 1998b). Deze route vormt een mogelijkheid voor toxinen om de bulbus olfactorius binnen te dringen, en vanaf daar toegang tot het limbische systeem en de neurale weefselvloeistof te verkrijgen (Kilburn, 1998b).

## 5 Onderzoek naar interactie van neurotoxinen met neurodegeneratieve pathologie – concepten en methodes

### 5.1 Risico-inschatting

Het doel van toxicologisch onderzoek is tweezijdig; enerzijds verschaft deze wetenschapstak nieuwe inzichten die tot een beter begrip leiden van de rol van chemicaliën in het metabolisme en functioneren van organismes. Anderzijds wordt toxicologisch onderzoek van industriële chemicaliën uitgevoerd om tot regulatie-adviezen te komen, teneinde het beleid voor milieu- en arbeidsomstandigheden en consumentenbescherming te verbeteren.

Toevallige blootstellingen, en opzettelijke vergiftigingen, van mensen en proefdieren hebben geresulteerd in vele rapporten over de schadelijke effecten van chemicaliën op het neurologisch functioneren. Uiteindelijk hebben een aantal van deze observaties geleid tot bruikbare modellen voor het bestuderen van pathofysiologische en biochemische mechanismen van normaal neurale functioneren en ziekteprocessen.

Blootstelling van menselijke individuen aan toxische chemicaliën onder gecontroleerde omstandigheden is slechts in zeer beperkte gevallen mogelijk. Als er reden is om te veronderstellen dat de chemische substantie mogelijk langdurige of irreversibele effecten heeft, is ethische rechtvaardiging van het onderzoek uitgesloten. Maar observaties naar aanleiding van chemische blootstelling bij milieu- of werkincidenten hebben epidemiologisch onderzoek gestimuleerd naar de mogelijke relaties tussen neurotoxische blootstelling en de pathofysiologie van degeneratieve ziekten.

Inschatting van potentiële neurotoxische gezondheidsrisico's, naar aanleiding van blootstelling aan bepaalde chemicaliën, berust in de praktijk grotendeels op kennis van de aanwezigheid van substanties in de werk/leef-omgeving, het raadplegen van onderzoeksliteratuur met eerdere observaties van neurotoxische effecten, en refereren aan door de regering vastgestelde adviesniveaus voor deze chemicaliën. De huidige “adviesniveaus” voor toxische substanties zijn gebaseerd op gegevens verkregen uit observaties van milieuniveaus in het verleden. Gegevens van chemicaliën, beschrijvingen van blootstellingsomstandigheden en frequent gerapporteerde klinische neurotoxische effecten worden onder andere door volksgezondheid- en milieuinstanties verzameld en verwerkt in adviserende richtlijnen.

Blootstelling is gedefinieerd als de hoeveelheid en concentratie van een substantie in de omgeving die verondersteld wordt door een individu in dat gebied geabsorbeerd te worden. Hierbij worden zowel intensiteit als duur van de aanwezigheid van de substantie in aanmerking genomen, wat onafhankelijk van de dosis beschouwd moet worden. De dosis is de hoeveelheid die feitelijk opgenomen is door het individu, en wordt niet alleen bepaald door de blootstellingsomstandigheden en beschikbaarheid van het toxine, maar ook door factoren als hygiënische maatregelen, gedrag en biologische kenmerken (o.a. genetische predispositie voor gevoeligheid) van de blootgestelde persoon (Feldman, 1998a).

Ziekteproducerende gebeurtenissen kunnen zowel acute als chronische blootstellingen zijn. Het is belangrijk dit feit in beschouwing te nemen, omdat causale verbanden eenvoudiger zijn te leggen tussen neurologische symptomen en een recent blootstellingsincident, terwijl er in feite sprake kan zijn van langdurige blootstelling, mogelijk uit diverse bronnen (werkplaats, omgeving). Het verkrijgen van de benodigde informatie bij blootstelling in de werkomgeving vereist zorgvuldig en uitgebreid onderzoek door getraind industriële hygiëne (IH) personeel, gespecialiseerde meetapparatuur, evaluaties ter plekke van de werkomstandigheden en processen, beschrijvingen van de gebruikte ruwe materialen en tussenproducten, en potentiële alternatieve risicofactoren. Directe metingen van de concentraties van chemicaliën bij de ademzone van het individu verschaffen de meeste informatie over blootstelling aan inhaleerbare neurotoxinen, en kunnen nog waardevoller zijn als ze regelmatig en over een langer tijdstraject plaatsvinden. Als er

informatie bestaat over fysiologische of histologische indicatoren (biomarkers) voor een neurotoxisch effect, dan is het in bepaalde gevallen mogelijk de fysiologische respons direct te relateren aan een blootstellingsbron.

Als het niet mogelijk is directe blootstellingsmetingen te verrichten, kunnen surrogaatgegevens uit een breder gebied (gehele werk/woonplaats, water/lucht/grond-samples) worden gebruikt om de individuele blootstelling te schatten. Het op deze manier berekenen van blootstelling wordt gecompliceerd door vele variabele factoren, zoals de concentraties van chemicaliën op verschillende tijdstippen en locaties, en fysiologische en gedragseigenschappen van het blootgestelde individu. Om een nauwkeuriger beeld te verkrijgen van de individuele opname van chemicaliën kunnen tests met biomarkers gebruikt worden, voorzover deze beschikbaar zijn voor het desbetreffende opnamemechanisme of fysiologische effect (Feldman, 1998a).

### 5.1.1 Advieswaarden

Voor de vaststelling van toxicologische advieswaarden wordt ingeschat wat het hoogste niveau van blootstelling aan die stof is, waarbij de kans op een bepaald ongewenst gezondheidseffect in een bepaalde bevolkingsgroep naar redelijke verwachting niet groter is dan een nader omschreven waarde (Gezondheidsraad, 2002b). Er is sprake van een gezondheidskundige advieswaarde als de kans op deze effecten gelijk aan nul geacht wordt beneden de adviesconcentratie. In dit geval wordt er dus vanuitgegaan dat risico op gezondheidsschade pas ontstaat boven een drempelwaarde. Dit type advieswaarde wordt op de meeste substanties toegepast.

Advieswaarden die betrekking hebben op kansen op ongewenste effecten die niet nihil worden geacht — en dus niet tot de categorie ‘gezondheidskundig’ worden gerekend — zijn veel minder talrijk. Ze zijn er voor stoffen met kankerverwekkende en genotoxische eigenschappen waarvan men op theoretische gronden aanneemt dat ze geen drempel kennen.”

Van bepaalde stoffen wordt op theoretische grond aangenomen dat ze geen dergelijke gezondheidskundige drempelwaarde kennen, en schadelijke effecten zich bij elke dosis potentieel kunnen manifesteren. De adviserende instanties passen deze benadering vooralsnog alleen toe op kankerverwekkende en genotoxische stoffen.

De maat van de advieswaarde is afhankelijk van het met de desbetreffende substantie geassocieerde blootstellingspatroon. Het kan gaan om een tijdsgebonden concentratiewaarde (hoeveelheid per dag), of een omgevingsconcentratie. Bij deze methode wordt geen rekening gehouden met blootstelling aan combinaties van stoffen. Voor stoffen met overeenkomstige werking zijn richtlijnen beschikbaar die mogelijke interactie tussen paren van stoffen in aanmerking nemen, maar de toepasbaarheid hiervan is nog onzeker. Naast de bewerkelijkheid, is een belangrijke factor in de problematiek van de bepaling van combinatie-effecten, dat deze in het algemeen pas nauwkeurig meetbaar worden bij veel hogere concentraties dan die in werkelijkheid worden aangetroffen (Gezondheidsraad, 2002b).

De huidige aanpak van gezondheidsinstanties bij het onderzoeken van toxische risico's richt zich grotendeels op metingen van blootstelling, en het bepalen van acceptabele limieten hiervan. Deze benaderingswijze is effectief als er sprake is van een constante blootstellingsomgeving, maar minder bruikbaar in de meeste milieusituaties, waar concentraties van toxische stoffen fluctueren en lastig meetbaar zijn. Regulatie aan de hand van advieswaarden heeft bovendien tot gevolg dat de aandacht voor toxische ontwikkelingen beperkt blijft, zolang de drempelwaarde niet is bereikt. Indicaties van gevoeliger belasting worden hierdoor meestal pas onderzocht als er voldoende bewijs is voor blootstelling. Mogelijk ook ontstaat er onderschatting van gezondheidseffecten doordat de meer vatbare arbeiders statistisch gezien eerder ‘afvallen’ en een andere baan zoeken, het ‘healthy worker’ effect (Garabrant, 2000).

### 5.1.2 Responsmetingen

Een in vele opzichten nauwkeuriger benadering voor neurotoxische risicovaststelling begint met het bestuderen van gezondheidseffecten vóórdat blootstelling heeft plaatsgevonden. Het vaststellen van fysiologische veranderingen met beschikbaarheid van gegevens over een langer tijdstraject maakt het mogelijk potentiële toxische bronnen eerder en met meer zekerheid te identificeren. Deze aanpak is alleen realistisch als de gebruikte methoden voor vaststelling van

fysiologische veranderingen gevoelig, kosteneffectief en eenvoudig uitvoerbaar zijn, en daarmee breed toepasbaar.

Een aantal in klinisch en epidemiologisch onderzoek gebruikte fysiologische tests komt hiervoor mogelijk in aanmerking; prestatietingen, zoals reactietijd, balans, ooglidreflex, gripvastheid, kleuronderscheid, gezichtsveld, gehoor en spirometrische tests zijn voorbeelden van goed kwantificeerbare metingen waarvoor relatief weinig gespecialiseerde apparatuur en kennis benodigd is. Voorbeelden van eenvoudig toepasbare neuropsychologische analyses zijn korte-termijn geheugen, vocabulaire en IQ-tests. Bepaalde tests zijn gevoeliger voor specifieke toxinen dan andere, en enkele tests zijn meer geschikt om gegeneraliseerde neurologische gezondheidseffecten vast te stellen (Kilburn, 1998c). Evaluatiemethoden zijn in ontwikkeling om andere functies van het zenuwstelsel te testen, zoals sociaal gedrag, autonome processen en biologische ritmes (Cory-Slechta *et al.*, 2001).

## **5.2 Epidemiologisch onderzoek**

Epidemiologie is de studie van ziekte- en blootstellingspatronen in menselijke populaties. De hoofddoelen zijn het vaststellen of specifieke populatiegroepen een verhoogd risico hebben voor het ontwikkelen van bepaalde aandoeningen, en te onderzoeken welke toxische of andere factoren geassocieerd kunnen zijn met een verhoogd gezondheidsrisico (Garabrant, 2000).

### **5.2.1 Case-control studies**

Veel epidemiologische studies zijn uitgevoerd naar aanleiding van rapportage van blootstelling in individuele gevallen. Controlegroepen worden onafhankelijk van blootstellingsstatus geselecteerd uit dezelfde populatie, teneinde een schatting te verkrijgen van de distributie van blootstellingen. Belangrijkste nadeel aan deze onderzoeksmethode is de afhankelijkheid van rapportage achteraf door blootgestelde individuen, waarbij geheugen, selectiviteit en motivatie complicerende factoren zijn.

### **5.2.2 Cohort studies**

Dit type epidemiologisch onderzoek bestaat uit het volgen van twee of meer groepen mensen over een tijdstraject, met een verschil in blootstelling tussen de groepen. Vervolgens worden vergelijkingen van ziektefrequenties tussen de (sub)groepen gemaakt, en gecorreleerd met de bekende blootstellingsfactoren. Cohort studies worden meestal uitgevoerd door historische blootstellingsarchieven te verzamelen en het voorkomen van ziektegevallen en ontwikkeling te bepalen vanaf een later tijdstip. Inherente tekortkomingen van deze historische gegevens kunnen soms gecompenseerd worden door modellering van blootstellingsbronnen en doses (Feldman, 1998a). Ontwikkeling en toepassing van biomarkers voor de betrokken toxinen kan in toekomstige studies de betrouwbaarheid van de gegevens verhogen, daar deze een maat geven van totale lichaamsopname.

### **5.2.3 Transversale studies**

Een veel gebruikte epidemiologische onderzoeksmethode is het nemen van een dwarsdoorsnede van een populatie, en het meten hierin van de prevalentie van ziekte op één tijdstip, of over een relatief korte periode. Het gebrek aan gegevens over ontwikkeling en incidentie van ziektes maakt dit type studie echter grotendeels ongeschikt voor risicoanalyse.

## **5.3 Dierexperimenten en in-vitro onderzoek**

Het uitvoeren van onderzoek naar toxische effecten en neurodegeneratieve pathologie onder gecontroleerde omstandigheden is ten aanzien van menselijke proefpersonen uiteraard aan vele ethische beperkingen onderhevig. De voornaamste praktische alternatieven zijn het gebruik van proefdieren en de studie van in-vitro weefselkweek. Duizenden proefdieren worden jaarlijks in de EU gebruikt voor toxische risicoanalyse tests (EEA, 1997). Er worden stappen ondernomen in de EU om proefdiergebruik zoveel mogelijk te beperken. Problematisch is tevens het feit dat de dosis-respons curve van toxinen in dieren niet zonder meer te extrapoleren is naar mensen,

aangezien er soms dramatische kwantitatieve en/of kwalitatieve verschillen in effecten zijn (EEA, 1997).

Transgene proefdieren worden toegepast in de studie van neurodegeneratieve pathologie, met name de ziekte van Alzheimer. Zo zijn diermodellen gecreëerd voor fenomenen zoals beta-amyloid depositie (Chen *et al.*, 2000), waarbij effecten geobserveerd worden die tot op zekere hoogte vergelijkbaar zijn met die in menselijke AD-patiënten. De studie naar genetische componenten van neurodegeneratieve ziektes vormen ook een belangrijk toepassingsgebied van transgene dieren. Bepaalde mutaties in humaan genetisch materiaal die geassocieerd zijn met familiale vormen van dementie, kunnen overgebracht worden naar homologe genetische sequenties in zoogdieren zoals muizen. Dit maakt het mogelijk om expressiepatronen te bestuderen, te kijken naar de invloed van omgevingsfactoren, en in enkele gevallen pilot-studies te verrichten naar de effectiviteit van (preventieve) therapieën.

In-vitro onderzoek naar neurotoxische effecten beschouwt meestal (pre-)neuronale cellen in isolatie, gliale cellen in isolatie of combinaties hiervan in weefselkweek. Het voornaamste voordeel van deze procedure is dat directe controle verkregen wordt over vele parameters. Zo kan een neurotoxisch effect bestudeerd worden zonder interferentie van de bloed-hersen barrière, in een constant biochemisch milieu waar biochemische veranderingen direct meetbaar zijn.

Het beperkte vermogen om te extrapoleren van experimentele observaties naar menselijke effecten geldt nog in grotere mate voor in-vitro studies. Tomei en Umansky (1998) vestigden de aandacht op een ander probleem met weefselkweekprocedures: door de tamelijk ingrijpende isolatiemethodes en speciale condities van de kweekomgeving, is het waarschijnlijk dat de verkregen cellijnen een selectief verminderde gevoeligheid hebben voor een aantal factoren.

## 5.4 Discussie

Onderzoek naar causale relaties tussen blootstelling aan chemicaliën en neurodegeneratieve pathologie is onderhevig aan complicaties op ethisch, praktisch en statistisch gebied.

Experimentele blootstelling van menselijke proefpersonen aan substanties waarvan een langdurige of irreversibele toxische werking wordt vermoed, is onaanvaardbaar. De enige gelegenheid voor bestudering van deze effecten in mensen, is onopzettelijke blootstelling bij milieu- of werkincidenten, het domein van de epidemiologische wetenschap. De meest nauwkeurige resultaten kunnen worden verkregen als er blootstellingsdata en gezondheidsgegevens van de betrokken personen bestaan van vóór het moment van blootstelling. Prospectieve studies hebben als doelstelling het verkrijgen van dergelijke controlegegevens door regelmatige observaties te verrichten op een moment dat er nog geen sprake is van (bekende) blootstelling. Als deze gegevens niet beschikbaar zijn, moeten blootstellingsniveaus ofwel bepaald worden aan de hand van biomarkers, ofwel geschat worden. Schattingen moeten meestal plaatsvinden op basis van betrekkelijk onnauwkeurige bronnen, zoals het geheugen van de blootgestelde persoon, of extrapolatie van blootstellingsniveaus uit metingen na het incident.

Epidemiologisch onderzoek tracht op basis van dergelijke gegevens correlaties te vinden tussen blootstellingen en incidentie van pathologische fenomenen. Een algemene onderzoeksmethode in de epidemiologie is de case-control studie, waarbij rapportage van blootstelling in individuele gevallen vergeleken wordt met controlegroepen uit dezelfde populatie. Bij cohort-studies worden twee of meer groepen mensen met differentiële blootstellingsniveaus over een tijdstraject gevolgd. Transversale studies maken geen gebruik van controlegroepen, en meten de prevalentie van een pathologisch fenomeen op één tijdstip.

De voornaamste andere alternatieven voor toxisch effect-onderzoek zijn gebruik van proefdieren, en in-vitro studies. Het belangrijkste voordeel van deze methoden is de flexibiliteit wat betreft de experimentele parameters en onderzoeksopzet. Extrapolatie van causale of dosis-respons relaties naar de humane fysiologie is echter gecompliceerd en gevaarlijk. Dit geldt in het bijzonder voor in-vitro onderzoek (o.a. Tomei en Umansky, 1998).

## 6 Onderzoek naar interactie van neurotoxinen met neurodegeneratieve pathologie – resultaten

### 6.1 Internationale prevalentie van neurodegeneratieve aandoeningen

De prevalentie is een cijfer dat een schatting geeft van welk aantal mensen op een bepaald tijdstip aan een bepaalde aandoening lijdt. Prevalentiecijfers kunnen inzicht geven in de maatschappelijke omvang van specifieke gezondheidsproblematiek, en kunnen ook toegepast worden bij het ontdekken van epidemiologische trends.

Wereldwijd zijn vele onderzoeken naar de prevalentie van dementerende aandoeningen uitgevoerd (referenties, zie: Hendrie, 1998). De gevonden getallen variëren in hoge mate, wat aan een aantal factoren geweten wordt: methodologische onderzoeksverschillen, afwijkende diagnostische criteria, of een combinatie daarvan (Hendrie, 1998). Over de jaren is er echter langzamerhand een neiging tot convergentie in internationale prevalentiecijfers zichtbaar geworden. Tabel 2 toont prevalentiecijfers zoals deze gepubliceerd zijn uit onderzoeken in Europa en Noord-Amerika vanaf 1989.

**Tabel 2. Gegevens uit wereldwijd prevalentie onderzoek vanaf 1989:**

<i>Jaar</i>	<i>Land</i>	<i>Leeftijd</i>	<i>Gebruikte definitie</i>	<i>Prevalentie (%)</i>
1990	Verenigd Koninkrijk	65	Dementie	6.1
1991	Frankrijk	65	Dementie	3.6
1989	VS	65	Waarschijnlijke AD	10.3
1991	VS	65	Dementie	4.5
1994	Canada	65	Dementie	8.0
1991	Nederland	85	Dementie	23.0
1989	Verenigd Koninkrijk	75	Dementie	10.5
1991	VS	75	Dementie	22.8
1995	VS	65	Dementie	8.24
1996	VS	71	Dementie	7.6
1996	VS	65	Dementie	6.3

aangepast uit: Hendrie HC (1998). *Epidemiology of Dementia and Alzheimer's Disease*. Am J Geriatr Psychiatry; 6:S3-S18

Een andere duidelijk zichtbare trend is dat de waarschijnlijkheid van het ontwikkelen van dementie toeneemt met leeftijd. De EURODEM (European Community Concerted Action on the Epidemiology and Prevention of Dementia) groep verzamelde prevalentiedata tussen 1980 en 1990, onderverdeeld in leeftijdsklassen (Lobo *et al.*, 2000). Een overzicht van de resultaten is weergegeven in tabel 3. De cijfers zijn gebaseerd op gevallen waarbij de klinische diagnose van dementie is gesteld.

Amerikaanse gegevens schetsen een vergelijkbaar beeld. Het National Center for Health Statistics beschouwde mortaliteitsdata, met als vastgestelde oorzaak Alzheimer-type dementie. Hieruit bleek dat de kans op Alzheimer als doodsoorzaak sterk toeneemt vanaf het 65<sup>ste</sup> levensjaar, vanaf 10 doden op 100.000 individuen in de leeftijdsklasse van 65 tot 74, tot bijna 228 op 100.000 in de klasse boven 85 jaar. Bovendien werd een twintigvoudige toename van Alzheimer-gerelateerde mortaliteit gevonden tussen 1979 en 1993, hetgeen echter geweten werd aan verbeteringen in diagnose en rapportage (National Center for Health Statistics, 1996).

Een metastudie van 23 gepubliceerde onderzoeken naar de leeftijdsspecifieke incidentie van AD- en dementie onthulde een exponentiële toename van incidentie tot het 90<sup>ste</sup> levenjaar (Kukull en Ganguli, 2000).

**Tabel 3. EURODEM prevalantiecijfers van dementerende aandoeningen:**

<i>Leeftijdsgroep</i>	<i>Mannen</i>	<i>Vrouwen</i>
30-59	0.16%	0.09%
60-64	1.58%	0.47%
65-69	2.17%	1.10%
70-74	4.61%	3.86%
75-79	5.04%	6.67%
80-84	12.12%	13.50%
85-89	18.45%	22.76%
90-94	32.1%	32.25%
95-99	31.58%	36.00%

Volgens Riggs (1998a) is deze trend een gevolg van steeds verbeterende medische zorg, een hogere algemene levensverwachting, alsmede een effect dat de auteur aanduidt met de term “differentiële overleving”. Gedoeld wordt hiermee op het feit dat de vatbaarheid van individuen voor deze aandoeningen variabel is, en dat in theorie de meer “vatbare” individuen door de betere medische zorg een grotere kans krijgen te overleven tot het stadium waarin de aandoeningen zich manifesteren. Opgemerkt dient te worden dat van de precieze aanvang van de meeste typen dementie weinig bekend is, zodat leeftijd niet noodzakelijkerwijs altijd de bepalende rol speelt.

## **6.2 Neurotoxinen en implicaties in neurodegeneratieve aandoeningen**

De belangrijkste chemicaliën die in onderzoek zijn geassocieerd met neuropathologische schade van het progressieve degeneratieve type zullen hier belicht worden, met een omschrijving van het toxische mechanisme voor zover dit bekend is. In het licht van de vraagstelling ligt de aandacht hoofdzakelijk op neurotoxinen die in staat worden geacht progressieve neuronale schade aan te richten, en factoren beïnvloeden die een rol spelen in neurodegeneratieve dementie, zoals die besproken zijn in het hoofdstuk ‘Etiologie van AD en non-AD dementie’.

### **6.2.1 Aluminium**

Aluminium is een trivalent spooorelement, dat in de natuur voorkomt als silicaat, oxide of halide. De metallische vorm wordt uitsluitend verkregen door elektrolytische verwerking van aluminiumoxide verkregen uit mijnertsen. In het milieu wordt aluminium voornamelijk aangetroffen in bodem en water. In de werkomgeving kan blootstelling aan de metaalvorm van aluminium

plaatsvinden door vorming van stofpartikels, zoals bij mijnoperaties en metaalverwerkende industrie. Organo-aluminium verbindingen worden gebruikt als katalysators in polymerisatieprocessen, en hier bestaat het blootstellingsrisico uit opname door inhalatie of huidcontact. In metaalvorm wordt aluminium toegepast in onder andere kookgerei en vliegtuig- en autoconstructie. In diverse medicamenten, cosmetica, conservatiemiddelen en verpakkingsmaterialen is aluminium, of een aluminiumverbinding, aanwezig. Ook in waterzuivering wordt aluminium toegepast. Voorts nemen we aluminium op via drinkwater, agrarische producten, thee en bakkersproducten (Feldman, 1998b). Er is geen fysiologische rol van aluminium in ons lichaam bekend, en men zou daarom kunnen veronderstellen dat de aanwezigheid ervan negatieve effecten heeft. Onderzoek naar vele potentiële pathofysiologische gevolgen van aluminiumopname heeft plaatsgevonden en blijft onderwerp van significante wetenschappelijke en klinische interesse (Nayak, 2002).

#### **6.2.1.1 Epidemiologische studies**

Onderzoek naar relaties tussen aluminium en neurodegeneratieve dementie worden onder andere bemoeilijkt door het brede voorkomen van aluminium in voeding en watervoorzieningen (Hendrie, 1998). Hoewel een directe causale rol van aluminium in de ziekte van Alzheimer nog niet is aangetoond, suggereert epidemiologisch bewijs dat een verhoogd niveau van aluminium in hersenweefsel gerelateerd kan zijn aan de ontwikkeling van AD. Nadat proefdierstudies een verband legden tussen aluminium in drinkwater en ontwikkeling van AD pathologie, kwam epidemiologisch onderzoek op gang naar neurodegeneratieve effecten van chronische blootstelling aan aluminium.

In een Canadese studie naar incidentie van AD en dementie werden populaties in een woonomgeving met verhoogde concentraties (meer dan 100 microgram/liter) aluminium in de drinkwatervoorziening beschouwd. Over een 10-jarig tijdstraject werd een relatief risico van 1.99 voor dementie en 2.14 voor AD gevonden. Deze resultaten werden grotendeels bevestigd in een Franse studie met meer dan 3700 individuen met een leeftijd boven 65 jaar (Campbell, 2002). Cognitieve functietests zijn verricht op Canadese mijnwerkers die langdurig een profylactisch geneesmiddel, dat aluminium bevatte, gebruikten tegen silicosis. Zij vertoonden significant lagere prestaties in deze tests, in vergelijking met een niet blootgestelde controlegroep (Rifat *et al.*, 1990).

Geografische correlaties zijn gevonden tussen sterfgevallen ten gevolge van dementie, en aluminiumconcentraties in water, en de resultaten zijn gereproduceerd in meerdere studies (Martyn, 1992; Perl *et al.*, 1982; Carpenter, 2001).

Aluminiumoplossing gebruikt in dialysevloeistof voor uraemische patiënten is in verscheidene onderzoeken aangewezen als oorzaak van een ernstige vorm van encephalopathie (Campbell, 2002). Aluminiumhoudende intraveneuze oplossingen gebruikt bij zuigelingen zijn geassocieerd met schadelijke effecten voor de neurologische ontwikkeling (Campbell, 2002).

#### **6.2.1.2 Fysiologische studies**

Enkele studies vonden significant verhoogde concentraties van aluminium in de hippocampus, inferieure pariëtale lobule en temporale gyri van AD patiënten in vergelijking met controlegroepen. In een aantal onderzoeken is deze bevinding niet gereproduceerd (Campbell, 2002). Analyse van aluminium en ijzerconcentraties met gevoelige laser microprobe methoden toonde substantieel hogere accumulaties aan in neurofibrillaire tangles, nuclei van neuronen en neuropil van AD-patiënten, en patiënten met dementia pugilistica, dan in een controlegroep (Bouras *et al.*, 1997).

#### **6.2.1.3 Toxische mechanismen**

Een mogelijk mechanisme voor inductie van neurodegeneratieve schade door aluminium bestaat uit de verhoging van oxidatieve stress. Hoewel aluminium zelf geen oxiderende eigenschappen heeft, is verhoging van de oxiderende activiteit van ijzer in aanwezigheid van aluminium aangetoond, zowel in-vitro als in-vivo (Campbell, 2002). In een onderzoek met transgene ratten die een verhoogde expressie van amyloid precursor eiwit vertonen, bleek blootstelling aan



aluminium in het dieet te leiden tot AD-achtige amyloïde pathologie door verhoogde oxidatieve stress in de hersenen (Pratico *et al.*, 2002).

Een ontstekingsinducerende werking van aluminium en aluminiumoxide is in diverse weefsels aangetoond. Uit een aantal proefdieronderzoeken blijkt aluminium de productie van bepaalde ontstekingsfactoren op een dosisafhankelijke manier te bevorderen. Campbell (2002) rapporteerde een verhoging van expressie van de transcriptiefactor NF- $\kappa$ B, die mogelijk een essentiële rol speelt in de neurale ontstekingscascade, bij introductie van aluminiumoxide in in-vitro menselijke glioblastoma cellen.

Recent in-vitro onderzoek naar de effecten van chronische aluminiumchloride blootstelling in neuronen uit de cerebrale cortex van ratten, toonde degeneratie van neurieten en accumulatie van tau proteïne en  $\beta$ -amyloid aan. Dezelfde onderzoekers observeerden een aluminiumgeïnduceerde conformatieverandering in  $\beta$ -amyloid, die in-vitro aggregatie bevordert (Parbhu *et al.*, 2002).

Aluminium bleek in in-vitro onderzoek zeer effectief in het versnellen van de formatie van  $\alpha$ -synucleïne fibrillen, de belangrijkste componenten van Lewy lichaampjes en Lewy neurieten in onder andere de ziekte van Parkinson (Uversky *et al.*, 2001). In neurofibrillaire tangles van het AD-type troffen Perl en Pendlebury (1986) accumulaties van aluminium aan. Vergelijkbare aluminiumophopingen zijn gevonden in NFT-dragende neuronen in Guam-type dementie (Perl en Pendlebury, 1986). Landsberg *et al.* (1992) echter slaagden er bij toepassing van een metingstechniek zonder chemische kleuringsmethode niet in de observatie van verhoogde aluminiumconcentraties in plaques te bevestigen.

## 6.2.2 Kwik

Kwik is een metaalelement dat verkregen wordt uit mijnerts. In het milieu wordt het uitsluitend aangetroffen in een geoxideerde staat, in zowel organische als anorganische verbindingen. Bronnen van kwikvervuiling in het milieu zijn, naast industriële verwerking en afvalstorting, oplossing in water vanuit gesteente en sediment. Micro-organismen in water, sediment en grond zijn in staat anorganische kwikverbindingen te methyleren, waarna de organische vorm via planten en vis de menselijke voedselketen bereikt.

De elementaire vorm van kwik wordt toegepast in diverse meetapparatuur en electronica, zoals barometers, batterijen, schakelaars en kwikdamp lampen. Anorganische kwikverbindingen worden gebruikt in onder anderen, cosmetica, kleurstoffen, spiegels, juwelen, medicijnen, ontsmettingsmiddelen, looimiddelen en fotografie. Kwikzouten vinden industriële toepassing in galvanisatie met goud, zilver en brons. Organische kwikverbindingen worden aangetroffen in fungiciden, bactericiden en ontsmettingsmiddelen. Veel ruchtbaarheid is de laatste jaren gegeven aan kwikamalgamen zoals die gebruikt worden in tandheelkundige vullingen, waarvan aangetoond is dat ze kunnen leiden tot verhoging van kwikconcentratie in het lichaam.

Na blootstelling aan kwik accumuleert dit metaal in het lichaam. De elementaire vorm van kwik ondervindt de minste weerstand bij het passeren van de bloed-brein barrière. De vetoplosbare methylkwikverbindingen zijn ook in staat door de bloed-hersen barrière te diffunderen (Feldman, 1998c).

### 6.2.2.1 Epidemiologische/fysiologische studies

Thompson *et al.* (1988) voerden metingen uit op de concentraties van diverse spoorelementen in de amygdala, hippocampus en nucleus basalis van Meynert (nbM) in het brein van AD-cadavers. Een significante afwijking ten opzichte van non-Alzheimer controles werd gevonden in kwikconcentraties in de nbM, en deze bleek groter te zijn dan verschillen in alle andere beschouwde spoorelementen.

Een cohortonderzoek naar kwikniveau's in de urine van een totale populatie van 1127 soldaten, toonde concentraties in dragers van amalgaamvullingen aan die gemiddeld 4.5 maal hoger lagen dan in amalgaamvrije controles (Kingman *et al.*, 1998). Er bestaat aanzienlijke controverse over de mogelijkheid dat tandheelkundig amalgaam een risicofactor is voor de ziekte van Alzheimer (Schuurs en de Wolff, 1997; Ely, 2001).

### 6.2.2.2 Toxische mechanismen

Afbraak van microtubuli, die noodzakelijk zijn voor de integriteit van neuriet structuur, is in-vivo gevonden als effect van introductie van kwik. Blootstelling van ratten aan kwikdamp in concentraties overeenkomstig aan die waaraan dragers van amalgaamvullingen bloot staan, resulteerde in verminderde polymerisatie van tubuline in het brein (Pendergrass *et al.*, 1997). Het mechanisme hierachter bestaat waarschijnlijk uit veranderingen aan tubuline, met verminderde affiniteit voor GTP tot gevolg. Vergelijkbare laesies zijn gevonden in de hersenen van AD-patiënten (Pendergrass *et al.*, 1997). De bevindingen werden door recent in-vitro onderzoek ondersteund, waarbij eveneens neurofibril aggregatie en verandering van neuronale groeipatronen werd geobserveerd (Leong *et al.*, 2001).

Olivieri *et al.* (2000) toonden significant verhoogde amyloid- $\beta$  secretie en tau fosforylatie aan als gevolg van in-vitro blootstelling van neuroblastoma cellen aan een anorganische kwikverbinding ( $\text{HgCl}_2$ ). Dit resultaat suggereert een mogelijke relatie tussen kwikblootstelling en vorming van neuritische plaques en NFT in AD.

### 6.2.3 Pesticiden

De meeste algemeen gebruikte pesticiden danken hun dodelijke werking op insecten aan neurotoxische effecten. Onderzoek toonde deze neurotoxische effecten van pesticiden ook in hogere zoogdieren aan. Pesticiden behoren tot de meest wijdverspreide neurotoxinen in het milieu, en de omvang van blootgestelde risicogroepen is enorm.

De meeste vastgestelde pesticidevergiftigingen zijn aangetroffen in individuen werkzaam in de industriële productie van pesticiden, of in een landbouwsituatie waar deze worden toegepast. Blootstelling vindt ook plaats door het eten van ongewassen fruit, besmetting van drinkwater of incorrect gebruik van insectensprays en dergelijke (Hartman, 1995a).

Het meeste onderzoek is verricht naar de groep van organofosfaten die een meer acuut toxisch effect hebben dan andere groepen pesticiden. Cholinerge stoornissen en perifere neuropathie worden beschouwd als de belangrijkste neurotoxische effecten van organofosfaten (Hartman, 1995a).

#### 6.2.3.1 Epidemiologische/fysiologische studies

Blootstelling aan pesticiden is aangemerkt als risicofactor voor de ziekte van Parkinson (Di Monte *et al.*, 2002; Weiss, 2000). In epidemiologische studies werd een verband gevonden tussen blootstelling aan pesticiden, plattelandsleven en putwater geassocieerd zijn met een verhoogd risico voor Parkinson (Sherer *et al.*, 2002).

McCormack *et al.* (2002) observeerden specifieke aantasting van dopaminerge neuronen in de substantia nigra na blootstelling van muizen aan een herbicide. Cohortvergelijkingen van organische chloor insecticide concentraties in het brein van patiënten met Parkinson, Alzheimer, dementie met Lewy lichaampjes en nongedementeerde non-Parkinson controles toonden een significante verhoging in de substantia nigra van Parkinson gevallen (Corrigan *et al.*, 2000). Deze resultaten lijken te wijzen op een rol van de betrokken herbiciden en insecticiden bij toxische degeneratie van dopaminerge neuronen in de substantia nigra, die daarmee kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van Parkinson. Fleming *et al.* (1994) vonden een preferentiële distributie van Dieldrin (een organochloor pesticide) in Parkinson-patiënten.

#### 6.2.3.2 Toxische mechanismen

In diervormen is een inhiberend effect van pesticiden op het mitochondriale complex I geobserveerd, leidend tot symptomen van PD (Sherer *et al.*, 2002). Defecten in complex I kunnen oxidatieve stress en verhoogde vatbaarheid voor excitotoxische celdood veroorzaken.

OF verbindingen zijn een goed voorbeeld van de variabiliteit van toxische effecten in mensen. De meest frequente oorzaak van toxische effecten van OF verbindingen bestaat uit inhibitie van acetylcholinesterase in de parasympathische, sympathische en centrale zenuwstelsels. Dit leidt tot ophoping van acetylcholine in de synapsen, wat cholinerge stoornissen kan veroorzaken. De

inhibitie kan irreversibel zijn, en tot wijzigingen in acetylcholine receptoren leiden (Hartman, 1995a). Ditzelfde anticholinesterase effect van bepaalde OF- en non-OF-verbindingen wordt echter benut als therapeutische compensatie voor cholinerge hypofunctie in diverse cognitieve aandoeningen, waaronder AD (Overstreet, 2000).

## 6.2.4 Lood

Lood wordt in mijnertsen aangetroffen, meestal in de vorm van loodsulfiet, loodsulfaat en loodcarbonaat. Ook loodchloorfosfaat wordt in de natuur gevonden. Lood kan een variëteit aan organische en anorganische verbindingen aangaan. Door mijninspanningen en verwerking komt lood in toenemende mate in de bodem voor, ondanks stappen om de productie en het gebruik van lood te verminderen, zoals loodhoudende brandstoffen, loodsoldeersel in voedselblikken, "loodgieterij" en verf met loodbasis.

Anorganische loodverbindingen komen in het milieu vrij door verbranding van organische loodverbindingen, en accumuleren in sediment, planten, en circuleren door stof in buiten- en binnenlucht. Groepen met een hoog risico voor blootstelling aan anorganisch lood zijn mijnwerkers, arbeiders in smelterijen en gieterijen, constructie, sloop, en ook gezinnen van blootgestelde arbeiders. Daarnaast zijn oudere gebouwen waarin loodverf is gebruikt, of loodsoldeersel is toegepast in de leidingen, een voorname bron van loodblootstelling (Aschengrau *et al.*, 1994).

Atmosferische neerslag en uitstoot door industrie vormen een grote bron van organische loodbesmetting in grond- en oppervlaktewater. Organische loodverbindingen worden opgenomen door planten en circuleren in de voedselketen (Feldman, 1998d).

Permanente neurologische schade is geassocieerd met acute en chronische blootstelling aan anorganisch lood in utero, of gedurende de jeugd, maar is ook waargenomen in volwassenen (Feldman, 1998d). Organische loodvergiftiging komt tegenwoordig veel minder voor in landen waar een verbod op loodhoudende benzines geldt.

### 6.2.4.1 Epidemiologische/fysiologische studies

Verhoogde systemische loodniveaus kunnen invloed hebben op alle delen van het zenuwstelsel. Vindingen van motorische zenuwaandoeningen, perifere neuropathie en encephalopathie zijn daarom effecten die gecombineerd kunnen voorkomen in patiënten met een loodvergiftiging. Het is mogelijk dat individuen waarbij een diagnose van perifere neuropathie is gesteld, tevens lijden onder niet herkende effecten op bijvoorbeeld het centraal zenuwstelsel (Feldman *et al.*, 1997). Blootstelling tijdens de jeugd is voorgesteld als een bijdragende risicofactor aan de ziekte van Alzheimer (Prince, 1998). Hersenonderzoek in een patiënt die overleed aan ernstige mentale achteruitgang en bovendien tijdens de jeugd aan ernstige lood encephalopathie leed, toonde diffuse corticale atrofie, Alzheimer-type NFT en seniele plaques. Naar aanleiding van deze resultaten is de mogelijkheid voorgesteld dat loodblootstelling tot vorming van neuropathologische verschijnselen geassocieerd met AD kan leiden (Niklowitz en Mandybur, 1975).

In een case-control onderzoek naar risicofactoren voor amyotrofe laterale sclerose werd een mogelijke associatie gevonden met loodblootstelling (Armon *et al.*, 1991). Significant verhoogde concentraties van lood zijn aangetroffen in hersenweefsel van gevallen van DNTC, een vorm van preseniele dementie met diffuse NFT en calcificatie, en zouden betrokken kunnen zijn bij de pathogenese hiervan (Haraguchi *et al.*, 2001). Een gezondheidssurveillance programma uitgevoerd op in loodverwerkende industrie werkzame arbeiders in Denemarken vond een geval van chronische dementie met als meest waarschijnlijke oorzaak langdurige blootstelling aan zeer lage doses lood en organische oplosmiddelen (Rasmussen en Gilkou, 1991).

Een Noorse longitudinale studie naar verouderingseffecten en loodconcentraties in het bloed vond geen significante relatie tussen loodblootstelling en cognitieve achteruitgang (Nordberg *et al.*, 2000). Een case-control onderzoek in de Verenigde Staten vond geen duidelijk verhoogd risico voor de ziekte van Alzheimer als gevolg van blootstelling aan lood of organische oplosmiddelen (Shalat *et al.*, 1988).

#### 6.2.4.2 Toxische mechanismen

Anorganisch lood heeft een inhiberende werking op verscheidene enzymen (Feldman, 1998d). In-vitro is directe inhibitie van glucose-verwerkende enzymen door lage concentraties loodacetaat aangetoond. Deze bevinding zou een verband kunnen leggen tussen loodblootstelling en neurodegeneratieve ziektes waarin sprake is van een afwijkend glucosemetabolisme, zoals sporadische AD (Yun en Hoyer, 2000).

Een aantal studies heeft aangetoond dat gecombineerde blootstelling van neuronale cellen aan glutamaat en lood sterke excitotoxiciteit kan veroorzaken. Waarschijnlijk bestaat het effect van deze interactie uit een verhoogde productie van reactieve zuurstof soorten die oxidatieve schade aanrichten, en daarmee samenhangend de activatie van genetische factoren betrokken bij apoptose en necrose (Savolainen *et al.*, 1998).

Waterman *et al.* (1994) opperden de hypothese dat blootstelling aan lood de immunogeniciteit van neurale proteïnen verhoogt. De vorming van auto-antilichaampjes tegen met lood geïncubeerde neurale proteïnen in-vivo is geobserveerd (Waterman *et al.*, 1994).

#### 6.2.5 Mangaan

Mangaan wordt in diverse oxididevormen en zuiverheidsgraden aangetroffen. Het metaal wordt gewonnen uit mijnerts. Mangaan wordt toegepast in metaalconstructie, de kledingindustrie, medicinale producten, batterijen, glas, lucifers, vuurwerk, kunstmest, diervoeding, verf en vernis, pesticiden en als brandstofadditief. Het gebruik van methylcyclopentadienyl-mangaan-tricarbonyl in ongelode benzine heeft in de afgelopen jaren geleid tot een verhoogde aandacht voor de toxische effecten van mangaan.

Blootstellingsrisico's zijn onder meer verhoogd voor mijnwerkers, en arbeiders in smelterijen en metaalverwerkende industrie. Atmosferische vervuiling ten gevolge van industriële uitstoot en verbruik van mangaanhoudende brandstoffen hebben geleid tot verhoogde concentraties in de lucht, vooral binnen grote stedelijke agglomeraties, met een bijzondere verhoging in de buurt van gieterijen. Van nature komt mangaan vooral veel voor in voedsel als tarwe, rijst, thee, noten en vlees. Verhoogde concentraties kunnen voorkomen in drinkwater ten gevolge van lokale besmetting door mineraalformaties of incorrecte lozingen van toxisch afval (Feldman, 1998c).

##### 6.2.5.1 Epidemiologische/fysiologische studies

Mangaantoxiciteit kan klinische manifestaties tot gevolg hebben die overeenkomsten vertonen met die van de ziekte van Parkinson (Mergler, 1999). Al in 1837 werd een vergelijkbaar syndroom beschreven in Schotse werkers die blootgesteld waren aan mangaanoxide-stof, en is sindsdien aangetroffen in meerdere groepen van mijnwerkers en in andere industrieën. Het belangrijkste effect van mangaantoxiciteit bestaat zeer waarschijnlijk uit irreversibele schade aan het centrale zenuwstelsel (Iregren, 1999).

Een onderzoek uitgevoerd in een gebied in Quebec waar mangaan blootstelling in het milieu sterk verhoogd is, toonde een significante en dosis-afhankelijke correlatie tussen neurologische effecten en blootstelling. Hoewel deze effecten niet gekoppeld waren aan een klinische diagnose, heeft een aantal studies gerapporteerd dat de incidentie van Parkinson in hetzelfde gebied 2 tot 5-maal boven het landelijk gemiddelde lag (Hudnell, 1999).

Verhoogde niveaus van onder andere mangaan zijn aangetroffen in de substantia nigra van Parkinson patiënten (Uversky *et al.*, 2001).

Olanow *et al.* (1996) constateerden een Parkinsoniaans syndroom in volwassen rhesusapen als gevolg van meerdere injecties van mangaanchloride. Dit syndroom ging samen met gliosis in een deel van de substantia nigra en globus pallidus, maar in mindere mate met schade in het dopaminerge nigrostriatale systeem, hetgeen duidt op een verschil met de ziekte van Parkinson en MPTP-Parkinsonisme.

##### 6.2.5.2 Toxische mechanismen

Mangaan is een essentiële factor in een aantal enzymactiviteiten. Bovendien katalyseert het verschillende reacties als een transitietaal, en is daarmee van groot belang in weefsels met

veel mitochondriale activiteit, zoals hersenweefsel. Hoewel divalent mangaan ( $Mn^{2+}$ ) een krachtige antioxidant is, produceert trivalent mangaan ( $Mn^{3+}$ ) reactieve zuurstofsoorten, en bevordert het de oxidatie van dopamine en daarmee de vorming van neurotoxische bijproducten (Feldman, 1998c). In een studie naar de effecten van mangaanintroductie in astrocyten in-vitro, werden de volgende effecten geobserveerd: differentiatie van astrocyten in stellate cellen, concentratie-afhankelijke reductie van cellulaire DNA synthese en expressie van gliale fibrilzuurproteïnen, verminderde energieproductie en antioxidant capaciteit, en verlaagde activiteit van glutamaat transporters, verhoogde expressie van glutamine synthetase en cytokine factoren, en verhoging van het intracellulaire oxidatieve potentiaal. Waarschijnlijk zijn astrocyten dus significante factoren in het neurotoxische effect van mangaan (Chen en Liao, 2002). In-vitro onderzoek heeft aangetoond dat mangaan in staat is de formatie van alpha-synucleïne fibrillen, de grootste component van Lewy lichaampjes en Lewy neurieten in Parkinson, significant te versnellen (Uversky *et al.*, 2001).

## 6.2.6 Organische oplosmiddelen

De term “organisch oplosmiddel” is een algemene classificatie voor een chemische verbinding of mengsel, gebruikt in de industrie om niet-wateroplosbare materialen te extraheren, op te lossen of in suspensie te brengen. Op grond van chemische compositie worden organische oplosmiddelen opgedeeld in twee groepen; de alifatische koolwaterstoffen, waaronder hexanen, pentanen en octanen, worden grotendeels verkregen uit aardolie, en worden toegepast in schoonmaak- en ontvettingsmiddelen, verf, vernis en insecticiden. De aromatische koolwaterstoffen worden verkregen uit koolteer, en tot deze groep behoren onder andere de gehalogeneerde verbindingen zoals de zeer toxische chloor-koolwaterstoffen, alcoholen en glycolen.

Veel oplosmiddelen zijn vluchtig, in staat snel door intacte huid en longweefsel te dringen, lipofiel met een affiniteit voor zenuwweefsel, oplosbaar in bloed, hebben relatief onhinderlijke geuren bij lage concentraties, en kunnen chemische “verslavingen” veroorzaken.

Industriële blootstelling aan organische oplosmiddelen is algemeen onder arbeiders betrokken bij de productie van verf, lijmstoffen, coatings, kleurstoffen, polymeren, farmaceutica en synthetische weefsels. Schilders, vernissers en tapijtleggers lopen ook een verhoogd blootstellingsrisico. Daarnaast kan er vrijwillige blootstelling plaatsvinden, door misbruik van oplosmiddelen als “roesmiddel” (Hartman, 1995b).

### 6.2.6.1 Epidemiologische/fysiologische studies

Langdurige blootstelling aan een organisch oplosmiddel kan leiden tot irreversibele schade aan het centrale zenuwstelsel (van der Hoek *et al.*, 2001). Er is dan sprake van chronische toxische encephalopathie (CTE), hetgeen een erkende werkgerelateerde ziekte is. Tussen 1997 en 1999 zijn in Nederland patiënten waarbij het vermoeden van CTE bestond, onderzocht door interviews, bloedtests, neuropsychologisch onderzoek en gedragsneurologische evaluaties af te nemen en een blootstellingsindex vast te stellen. Van ongeveer 250 patiënten werd in 50 gevallen per jaar de diagnose van milde CTE gesteld, maar waarschijnlijk ligt de werkelijke incidentie hoger (van der Hoek *et al.*, 2001).

Herhaalde neuropsychologische en klinische evaluaties van 21 CTE patiënten lieten zien dat in minder dan helft van de gevallen verbetering lijkt op te treden, onafhankelijk van blootstellingsdosis of de tijd sinds blootstelling (Dryson en Ogden, 2000).

In een casestudie van een 64-jarige man met trichloorethyleen(TCE)-vergiftiging werd een progressieve neurodegeneratieve aandoening aangetroffen, die waarschijnlijk een zeldzame vorm van Pick's ziekte vertegenwoordigt (Shibayama *et al.*, 1983). Een case-control onderzoek vond een verhoogde incidentie van besmetting in de werkomgeving aan oplosmiddelen en metalen in patiënten met de ziekte van Alzheimer (Freed en Kandel, 1988). Daniell *et al.* (1999) vonden in een transversale-studie onder arbeiders een significante relatie tussen aanhoudend lagere gedragsneurologische testresultaten en blootstelling aan organische oplosmiddelen. De resultaten van een aantal andere epidemiologische studies zijn in strijd met de genoemde bevindingen. Zo werd in het Verenigd Koninkrijk een studie verricht naar de correlatie tussen

overlijdensbewijzen van patiënten met preseniele dementie en geschatte blootstelling aan organische oplosmiddelen of lood. Hier werd echter geen significant verband aangetroffen (O'Flynn *et al.*, 1987). Klinische evaluatie van 52 spoorwerkers waarbij een diagnose van oplosmiddel-geïnduceerde toxische encephalopathie was gesteld, bleek geen aanwijzingen te leveren voor dementie of encephalopathie, en de onderzoekers suggereerden andere factoren voor de milde symptomen die wel aangetroffen werden (Albers *et al.*, 2000). Een case-control studie waarin per postenquête navraag werd gedaan naar de werkgeschiedenis van dementiegevallen en controlegroepen, vond eveneens geen duidelijke correlatie tussen blootstelling aan oplosmiddelen en incidentie van dementie (Palmer *et al.*, 1998). Geen significant verband werd aangetroffen tussen totale blootstellingsintensiteit aan oplosmiddelen en aluminium en risico voor AD in een ander case-control onderzoek (Graves *et al.*, 1998). Alcohol is het meest geconsumeerde organische oplosmiddel. Hoewel in een aantal studies mild alcoholgebruik mogelijk geassocieerd is met een verlaagde risico op cognitieve aandoeningen, is alcoholverslaving gerelateerd aan een verhoogde prevalentie van cognitieve disfunctie in ouderen (Zuccala *et al.*, 2001). Een onderzoek naar prevalentie van oplosmiddel-gerelateerde chronische encephalopathie uitgevoerd bij medische instanties en sociale zekerheids-instituten in de landen van de Europese Unie bracht wijde verschillen in diagnostische criteria, aanwijzing van oorzaken en preventieve maatregelen aan het licht (Triebig en Hallermann, 2001). Triebig en Hallermann argumenteren dat meer consensus in onder andere diagnose procedures essentieel is, onder meer voor prospectieve inschattingen van prevalentie.

#### 6.2.6.2 Toxische mechanismen

Het is onwaarschijnlijk dat er een unificerend mechanisme gevonden zal worden dat de neurotoxische effecten van alle organische oplosmiddelen verklaart, aangezien meerdere ervan uiteenlopende biochemische verschijnselen veroorzaken. Proefdieronderzoek heeft toxische effecten gevonden die variëren van moleculaire veranderingen tot celdood. Een uitzondering vormt de algemene anesthetische werking op het centraal zenuwstelsel die oplosmiddelen hebben. Van een aantal oplosmiddelen is gedocumenteerd dat ze in staat zijn structurele schade aan het centraal zenuwstelsel te veroorzaken (Hartman, 1995b).

In een onderzoek naar de effecten van tolueenblootstelling op proefdieren werden veranderingen in neurotransmitter-samenstelling, hippocampale EEG-aberraties en structurele schade aan cerebrum en cerebellum gevonden. In ratten werd een belangrijke verandering gevonden in de productie van een aantal eiwitten die voornamelijk in gliale cellen voorkomen.

De chronische toxische effecten van trichloorethyleen (TCE) zijn toegeschreven aan vrije radicaal-schade en effecten van metaboliëten (Feldman, 1998f). Xyleen veroorzaakt in proefdieren onder andere een significante verhoging van GFAP-eiwitten, alsmede andere symptomen die overeenkomen met astrogliose. Dosisafhankelijke veranderingen in het dopamineniveau zijn gerapporteerd bij xyleenblootstelling van dieren (Feldman, 1998g). Een significante dosisafhankelijke reductie van acetylcholinesterase activiteit is gevonden als gevolg van blootstelling van ratten aan xyleen (Feldman, 1998g).

Langdurig alcoholmisbruik kan leiden tot thiamine-deficiëntie, wat structurele schade aan het centraal zenuwstelsel kan veroorzaken, in de vorm van het Wernicke-Korsakoff syndroom (Hartman, 1995c).

#### 6.2.7 Genotoxinen

Genotoxinen zijn stoffen die verschillende vormen van DNA schade kunnen veroorzaken, wat resulteert in een brede variatie aan moleculaire en morfologische defecten. Epidemiologische gegevens suggereren dat genotoxische chemicaliën uit de omgeving risicofactoren kunnen vormen voor neurodegeneratieve ziektes. Eizirik *et al.* (1996) stelden een mechanisme voor waarbij genotoxinen een cascade van cellulaire gebeurtenissen veroorzaken, uiteindelijk leidend tot progressieve cellulaire disfunctie en verlies. Bewijs van langdurige neuronale schade veroorzaakt door mutagene substanties ondersteunt dit.

In cellen van AD-patiënten zijn defecten in het DNA-reparatiemechanisme van alkyleringsschade gevonden. De hypothese dat defecte DNA-reparatie een mogelijke oorzaak van AD is, werd ondersteund door observaties van verlaagde DNA-reparatie activiteit in cellen afkomstig van AD-patiënten en nageslacht (Jones *et al.*, 1989). Ook in patiënten met amyotrofe laterale sclerose of ALS/PDC is een verlaagde DNA reparatie gevonden. Vooral postmitotische neuronen lijken vatbaar voor verhoogde cytotoxiciteit ten gevolge hiervan. Kisby *et al.* (1999) stelden voor dat een combinatie van verminderde DNA-reparatie en endogene/exogene genotoxinen een belangrijke factor is in de pathologie van sporadische neurodegeneratieve ziekten.

Een ander verdedigingsmechanisme van het lichaam tegen DNA-schade is de inductie van apoptose in de DNA-defecte cel. Een defect hierin zou kunnen leiden tot een verlengde levensduur van cellen met accumulerende DNA-schade, met verschillende pathologische effecten als gevolg. Ataxia-telangiectasia (A-T) is een voorbeeld van een neurodegeneratief syndroom dat volgens recent onderzoek wordt veroorzaakt door een mutatie in een gen met een belangrijke rol voor neurale apoptose (Lee *et al.*, 2001).

**Een in dit verband bijzonder interessante theorie is die van Cavalieri *et al.* (2002), die een unificerend moleculair mechanisme voorstellen voor vele vormen van kanker en neurodegeneratieve ziekten: centraal hierin staat een mutagene reactie van catechol ortho-quinonen met cellulair DNA. Dopamine zou via dit mechanisme PD kunnen veroorzaken, terwijl metabolische catecholen langs een enigszins vergelijkbare weg tumorinductie teweeg kunnen brengen (Cavalieri *et al.*, 2002).**

## 7 Discussie

### 7.1 Overzicht

Het aantal door de mens geproduceerde en in de samenleving gebruikte chemicaliën neemt nog steeds snel toe. Wetenschappelijke inspanningen om inzicht te verkrijgen in de gezondheids- en milieueffecten van deze chemicaliën lijken a priori de inhaalrace te hebben verloren. Het is aannemelijk dat individuen op dagelijkse basis worden blootgesteld aan neurotoxische substanties waarvan de lange-termijn effecten onbekend zijn. Bewijs is gevonden voor een verhoogde kwetsbaarheid van het verouderende brein voor diverse toxische effecten zoals oxidatieve stress. In vele gevallen hebben deze effecten overeenkomsten met de pathologische mechanismen van neurodegeneratieve aandoeningen. Indien toxinen een interactie met dergelijke pathologische mechanismen kunnen aangaan, vormen zij een additionele risicofactor voor neurodegeneratieve pathologie en versnelde cognitieve achteruitgang. Vooralsnog zijn er echter geen aanwijzingen te vinden in epidemiologisch en klinisch onderzoek, dat toxinen een primaire rol zouden spelen als risicofactor voor de belangrijkste neurodegeneratieve dementietypen waaronder AD, PD en amyotrofe laterale sclerose. In de gedocumenteerde gevallen ging het over langdurige blootstelling aan sterk verhoogde concentraties, of incidentele blootstelling aan hoge doses. Anderzijds kan er op basis van het huidige onderzoek weinig tot niets gezegd worden over de rol van geringe 'random' schade aan het centraal zenuwstelsel bij de huidige achtergrondconcentraties van bekende en onbekende neurotoxische stoffen. Zulke schade is waarschijnlijk, en het is theoretisch mogelijk, dat zij het beginpunt kan zijn voor het ontstaan van neurodegeneratieve ziekten. Genetische predispositie voor vervroegde aanvang van, en verhoogd risico op dementie is een aspect waarvan het belang in het merendeel van dergelijk onderzoek erkend wordt. In vrijwel alle gevallen zijn er aanwijzingen voor meerdere genetische factoren. Kwantificeren van de bijdrages van deze factoren is echter een gecompliceerd probleem, daar vele omgevingsfactoren betrokken zijn bij het tot uiting brengen van deze genetische predispositie. Evenwel wordt er op dit gebied vooruitgang geboekt, zoals bijvoorbeeld in studies met tweelingen (Ripatti *et al.*, 2003). Gezien de grote incidentie van dementerende aandoeningen op internationale schaal, is echter de vraag of toxische effecten de ontwikkeling van een neurodegeneratief ziektebeeld kunnen versnellen van minstens evenveel praktisch belang als het vraagstuk van causatie zelf. Het is daarom belangrijk te onderzoeken in hoeverre toxinen additionele risicofactoren zijn voor dementie. In dit rapport is een aantal voorbeelden van studies naar dit onderwerp aan de orde gekomen. Bij het trekken van conclusies op basis van resultaten van dergelijke onderzoeken moet rekening gehouden worden met uit de opzet voortkomende beperkingen. Hiervan zullen nu de belangrijkste besproken worden.

### 7.2 Bruikbaarheid van onderzoeksresultaten

Omdat de kwaliteit van epidemiologisch bewijs varieert tussen onderzoeken, is het voor het trekken van algemene conclusies belangrijk de resultaten te toetsen aan de volgende algemeen geaccepteerde criteria voor causale associatie (Garabrant, 2000):

- o sterkte van correlatie – hoe krachtiger de correlatie, des te kleiner de kans dat zij in feite door interfererende factoren veroorzaakt wordt
- o consistentie – bevindingen moeten repliceerbaar zijn
- o specificiteit – nauwkeurige definitie van zowel effect als agens maakt de associatie overtuigender
- o temporaliteit – blootstelling moet voorafgaan aan effect
- o dosis-respons – risico moet afhankelijk zijn van blootstellingsintensiteit en/of frequentie
- o plausibiliteit – als er een plausibel biologisch mechanisme bekend is voor de causatie, versterkt dit de associatie
- o coherentie – bevindingen zouden niet in strijd moeten zijn met eerder vastgestelde feiten



Na een epidemiologische literatuurstudie naar risicofactoren voor Parkinson, stelden Gorell en Checkoway (2001) vast dat het merendeel van de studies op een aantal van deze criteria faalt. Zo hebben vele studies een kleine populatiegrootte met een minder dan optimale keuze wat betreft subjecten en controles (onder andere door de beperking van vrijwillige deelname), waardoor interfererende factoren een grote rol kunnen spelen. Bovendien was de nauwkeurigheid van de diagnose van PD variabel, wat de consistentie niet ten goede komt. De meeste studies bleken bovendien afgestemd te zijn op metingen van prevalentie en niet incidentie, waardoor directe verbanden moeilijk zijn aan te wijzen en de vaststelling van temporaliteit en dosis-respons relatie verhindert wordt. Het criterium van specificiteit wordt evenzeer geschonden in vele studies waar de aard van blootstelling in brede categorieën is ingedeeld en niet op het niveau van individuele stoffen.

Hendrie (1998) constateerde vergelijkbare tekortkomingen in epidemiologisch onderzoek naar risicofactoren voor Alzheimer, en benadrukte de noodzaak voor minder variatie in de toegepaste methodologieën. Case-control en transversale studies hebben een inherent verhoogde kans op biasfactoren zoals differentiële overleving, en zijn veelal afhankelijk van historische blootstellingsgegevens met navenante zorgen omtrent betrouwbaarheid en validiteit. Methoden voor het onderzoeken van neurotoxische effecten aan de hand van neuropsychologische evaluaties lijden onder het probleem dat een uniek gedragsmatig fenotype zelden te isoleren is voor een gegeven neurotoxine. Toepassing van alleen generaliseerde prestatie metingen zoals IQ-tests kan bovendien het onderscheiden van belangrijke gedragsneurologische verschillen verhinderen (Bellinger, 2001).

### 7.3 Perspectieven in epidemiologisch onderzoek

Het veld van de epidemiologie maakt sterke ontwikkelingen door, die onderzoekers in staat zullen stellen in de toekomst sneller tot nauwkeuriger resultaten te komen. Zo wordt veel vooruitgang geboekt in de ontwikkeling van biomarkers die fungeren als individuele blootstellingsindex, of als indicator voor toxische pathologische processen. Ontwikkeling van genomische biomarkers kan helpen om de variabiliteit binnen de te onderzoeken statistische populatie te minimaliseren, zodat causale relaties gevoeliger kunnen worden onderzocht.

De recente resultaten met een verbinding die amyloïde deposities in levende AD-patiënten nauwkeurig kan detecteren, dragen de belofte dat het in de niet al te verre toekomst mogelijk zal zijn de ontwikkeling van AD in een veel vroeger stadium te screenen (Wang *et al.*, 2002). Het onderzoeken van mogelijke verbanden tussen toxische effecten en de pathologie van AD zal daarmee directer kunnen verlopen, vooral door het verminderen van de onzekerheid in klinische AD-diagnose, en het eerder kunnen detecteren en kwantificeren van pathologische effecten.

Verfijning en bredere acceptatie van een gedragsneurologische/fysiologische testbatterij is een belangrijke stap voor het verbeteren van epidemiologisch onderzoek naar neurotoxische effecten waarvoor geen bruikbare biochemische biomarkers beschikbaar zijn.

### 7.4 Perspectieven in risk assessment en preventie

Epidemiologisch onderzoek is een uitstekend paradigma voor het verkennen van mogelijke kwalitatieve correlatieve verbanden tussen chemische blootstelling in woon- en werkomgeving en diverse neurotoxische pathologieën. Echter, ondanks de beschikbaarheid van geavanceerde statistische correctiemethoden en gevoelige testbatterijen, is epidemiologie slechts één onderdeel van kwantitatief onderzoek. Variatie in genetische aanleg, comorbiditeit, onbekende omgevingsfactoren en blootstellingspatronen, en vooral ook gebrek aan uitgebreide individuele gegevens, vormen een belemmering voor het vaststellen van dosis-respons relaties door horizontaal<sup>11</sup> epidemiologisch onderzoek alléén.

---

<sup>11</sup> Met horizontaal onderzoek wordt hier bedoeld de analyse van effecten in en tussen statistische (sub)populaties.

Longitudinaal onderzoek in individuen is een essentiële stap in de analyse van de aard en omvang van risico's geassocieerd met blootstelling aan chemicaliën. Met name prospectieve studies zijn van grote waarde voor de precisie waarmee effecten kunnen worden vastgesteld. In de ideale situatie zijn niet alleen testgegevens van enkele jaren vóór de blootstellingsperiode beschikbaar (Gorell en Checkoway, 2001).

Gorell en Checkoway (2001) benadrukten de noodzaak voor toekomstige studies om zich meer te richten op analyse van specifieke toxicanten, en niet zozeer klassen van chemicaliën. Ook voor het onderzoeken van het verband tussen toxinen en algemene neurodegeneratieve mechanismen kan deze aanpak nuttig zijn. De toxische klassen die onderzocht worden (bijvoorbeeld 'metalen') komen niet noodzakelijkerwijs overeen met effectklassen (bijvoorbeeld 'oxidatieve stress'). Bovendien biedt aandacht voor specifieke toxinen meer gelegenheid voor uitbreiding naar, en vergelijk met, in-vitro en proefdieronderzoek.

Volgens Gorell en Checkoway zouden individuele blootstellingsgegevens in detail moeten worden geregistreerd, met speciale aandacht voor werk/woon-omstandigheden, en zouden analyses niet alleen plaats moeten vinden op basis van blootstellingsrapportage door de patiënt zelf.

## 7.5 Tot slot

Het feit dat neurotoxisch risico-onderzoek geen gelijke tred houdt met de explosieve toename van productie van chemicaliën, lijkt een weinig optimistisch toekomstbeeld te impliceren waar het de kenniskloof in gezondheidseffecten betreft. Omvattende analyses van alle mogelijke toxische mechanismen van individuele chemicaliën, en combinaties daarvan, zijn inderdaad voorsnog een praktische onmogelijkheid. Onderzoek naar potentiële relaties met neurodegeneratieve aandoeningen wordt daarbij nog gecompliceerd door de veelal late aanvang en gecompliceerde diagnose van de vele vormen hiervan.

Niettemin wekken klinische onderzoeksresultaten de suggestie dat aan vele neurotoxische pathologieën een aantal gemeenschappelijke elementen ten grondslag ligt. Oxidatieve stress (Perry *et al.*, 2002), excitotoxiciteit (Dawson *et al.*, 1995) en ontstekingsfactoren (Versijpt *et al.*, 2003) zijn voorbeelden van fenomenen die in een indrukwekkend aantal neurotoxische pathologieën voorkomen, en waarschijnlijk op meerdere punten overlap vertonen in de betrokken biochemische mechanismen (Migliore en Coppede, 2002). Het ontwikkelen van gevoelige biomarkers voor zowel neurotoxische blootstelling als neuropathologische processen biedt uitzicht op betere detectie van schadelijke blootstelling en directe observatie van effecten zodra ze zich voordoen.

Ouderen lopen extra risico in verband met milieukwaliteit, in verband met eerdere blootstellingen, verhoogde doorlaatbaarheid van de bloed-hersenbarrière, verminderde activiteit van het immuunsysteem, long- en nierfunctie en achteruitgang van reparatiesystemen.

Met betrekking tot preventief beleid, moet de conclusie getrokken worden dat wetgeving enkel en alleen op basis van 'no effect levels' niet volstaat voor neurotoxinen. Schade aan neuronen is irreversibel en kan aanleiding geven tot verdere ziekmakende processen. Daarom is grotere aandacht vereist, op basis van een voorzorgsbenadering. De door de Gezondheidsraad (2002b) voorgestelde aanpak voor genotoxische carcinogenen kan hier mogelijk dienen als richtlijn: het vaststellen van dosis-respons relaties geeft een beter houvast bij het limiteren van blootstellingsconcentraties, en de bepaling in hoeverre gezondheidseffecten het gevolg kunnen zijn van blootstelling.

## 7.6 Aanbevelingen

- o Stimuleren van ontwikkeling van biomarkers voor neurotoxische blootstelling en neurodegeneratieve pathologie
- o Een preventieve aanpak, waarbij blootstelling aan neurotoxische stoffen in de dagelijkse omgeving zoveel mogelijk wordt vermeden.

- o Stimuleren van prospectief longitudinaal gezondheidseffecten-onderzoek in werk- en woonomgevingen waar een verhoogd blootstellingsrisico bestaat voor neurotoxinen
- o Bevorderen van consensus tussen gezondheidsinstanties, klinische en epidemiologische wetenschapsgroepen over diagnostische criteria
- o Onderzoek naar risico's op langdurige of irreversibele gezondheidsschade kan baat hebben bij een focus op algemene toxische mechanismen en hun overlap met de biochemische processen achter degeneratieve syndromen.

## 8 Referenties

- Aaron LA, Buchwald D (2001). A review of the evidence for overlap among unexplained clinical conditions. *Annals of internal medicine*;134(9 Pt 2):868-881
- Ahmad S (1995). Oxidative stress from environmental pollutants. *Archives of insect biochemistry and physiology*;29(2):135-157
- Aitio A, Kallio A (1999). Exposure and effect monitoring: a critical appraisal of their practical application. *Toxicology letters*;108(2-3):137-147
- Albers JW, Wald JJ, Garabrant DH, Trask CL, Berent S (2000). Neurologic evaluation of workers previously diagnosed with solvent-induced toxic encephalopathy. *Journal of occupational and environmental medicine*;42(4):410-423
- Albin RL (2000): Basal ganglia neurotoxins. In: Albers JW, Berent S, Vassallo J, Behan S (eds): *Neurologic Clinics*. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 18, nr 3, 665-680
- Andreasen N, Blennow K (2002).  $\beta$ -Amyloid (A $\beta$ ) protein in cerebrospinal fluid as a biomarker for Alzheimer's disease. *Peptides*;23:1205-1214
- Armon C, Kurland LT, Daube JR, O'Brien PC (1991). Epidemiologic correlates of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*;41(7):1077-1084
- Aschengrau A, Beiser A, Bellinger D, Copenhafer D, Weitzman M (1994). The impact of soil lead abatement on urban children's blood lead levels: phase II results from the Boston Lead-In-Soil Demonstration Project. *Environmental research*;67(2):125-148
- Atroschi F, Biese I, Saloniemi H, Ali-Vehmas T, Saari S, Rizzo A, Veijalainen P (2000). Significance of apoptosis and its relationship to antioxidants after ochratoxin a administration in mice. *Journal of pharmaceutical sciences*;3(3):281-291
- Basu A, Krady JK, O'Malley M, Styren SD, DeKosky ST, Levison SW (2002). The type 1 interleukin-1 receptor is essential for the efficient activation of microglia and the induction of multiple proinflammatory mediators in response to brain injury. *The Journal of neuroscience*;22(14):6071-6082
- Bellinger DC (2001). Future Directions for Neurobehavioral Studies of Environmental Neurotoxicants. *Neurotoxicology*; 22:645-656
- Blanchard BJ, Thomas VL, Ingram VM (2002). Mechanism of membrane depolarization caused by the Alzheimer A $\beta$ 1-42 peptide. *Biochemical and Biophysical Research Communications*;293: 1197-1203
- Bouras C, Giannakopoulos P, Good PF, Hsu A, Hof PR, Perl DP (1997). A laser microprobe mass analysis of brain aluminum and iron in dementia pugilistica: comparison with Alzheimer's disease. *European neurology*;38(1):53-58
- Brandt R (1996). The tau proteins in neuronal growth and development. *Frontiers in Bioscience*;Aug 1:d118-130
- Brenneman KA, Wong BA, Buccellato MA, Costa ER, Gross EA, Dorman DC (2000). Direct olfactory transport of inhaled manganese ((54)MnCl(2)) to the rat brain: toxicokinetic investigations in a unilateral nasal occlusion model. *Toxicology and applied pharmacology*;169(3):238-248
- Butterfield DA, Kanski J (2002). Methionine residue 35 is critical for the oxidative stress and neurotoxic properties of Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide 1-42. *Peptides*;23:1299-1309
- Calne DB (1991). Neurotoxins and degeneration in the central nervous system. *Neurotoxicology*;12(3):335-339

- Campbell A (2002). The potential role of aluminium in Alzheimer's disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*;17 (suppl 2):17-20
- Carpenter DO (2001). Effects of metals on the nervous system of humans and animals. *International journal of occupational medicine and environmental health*;14(3):209-218
- Carr DB, Goate A, Phil D, Morris JC (1997). Current Concepts in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *The American journal of medicine*;103(3A):3S-10S
- Cavalieri EL, Rogan EG, Chakravarti D (2002). Initiation of cancer and other diseases by catechol ortho-quinones: a unifying mechanism. *Cellular and molecular life sciences*;59(4):665-681
- Chen CJ, Liao SL (2002). Oxidative stress involves in astrocytic alterations induced by manganese. *Experimental neurology*;175(1):216-225
- Chen G, Chen KS, Knox J, Inglis J, Bernard A, Martin SJ, Justice A, McConlogue L, Games D, Freedman SB, Morris RG (2000). A learning deficit related to age and beta-amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature* 21-28;408(6815):975-979
- Cherroret G, Desor D, Lehr PR (1994). In-vitro effect of aluminum chloride on choline acetyltransferase activity of the rat brain during postnatal growth. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*;52(4):487-491
- Chui H (2000). Vascular dementia, a new beginning. In: DeKosky ST, Vassallo J, Pinto C (eds): *Neurologic Clinics Philadelphia*, WB Saunders Company, Vol 18, nr 4, 951-977
- Cohlberg JA, Li J, Uversky VN, Fink, AL (2002). Heparin and Other Glycosaminoglycans Stimulate the Formation of Amyloid Fibrils from R-Synuclein in-vitro. *Biochemistry*;41:1502-1511
- Corrigan FM, Wienburg CL, Shore RF, Daniel SE, Mann D (2000). Organochlorine insecticides in substantia nigra in Parkinson's disease. *Journal of toxicology and environmental health Part A*;59(4):229-234
- Cory-Slechta DA, Crofton KM, Foran JA, Ross JF, Sheets LP, Weiss B, Milesen B (2001). Methods to identify and characterize developmental neurotoxicity for human health risk assessment. I: behavioral effects. *Environmental health perspectives*;109 Suppl 1:79-91
- Creasey H, Rapoport SI (1985). The aging human brain. *Annals of neurology*;17:2-10
- Díaz-Nido J, Wandosell F, Avila J (2002). Glycosaminoglycans and  $\beta$ -amyloid, prion and tau peptides in neurodegenerative diseases. *Peptides*;23:1323-1332
- Daniell WE, Claypoole KH, Checkoway H, Smith-Weller T, Dager SR, Townes BD, Rosenstock L (1999). Neuropsychological function in retired workers with previous long-term occupational exposure to solvents. *Occupational and environmental medicine*;56(2):93-105
- Dawson R Jr, Beal MF, Bondy SC, Di Monte DA, Isom GE (1995). Excitotoxins, aging, and environmental neurotoxins: implications for understanding human neurodegenerative diseases. *Toxicology and applied pharmacology*;134(1):1-17
- Di Monte DA, Lavasani M, Manning-Bog AB (2002). Environmental factors in Parkinson's disease. *Neurotoxicology*; 23(4-5):487-502
- Dodd PR (2002). Excited to death: different ways to lose your neurones. *Biogerontology*;3(1-2):51-56
- Dryson EW, Ogden JA (2000). Organic solvent induced chronic toxic encephalopathy: extent of recovery, and associated factors, following cessation of exposure. *Neurotoxicology*;21(5):659-665
- EEA (1997). Chemicals in the European Environment: Low Doses, High Stakes? The EEA and UNEP Annual Message on the State of Europe's Environment. European Environment Agency, Copenhagen
- Eizirik DL, Spencer P, Kisby GE (1996). Potential role of environmental genotoxic agents in diabetes mellitus and neurodegenerative diseases. *Biochemical pharmacology*;51(12):1585-1591

- Elgh E, Sundstrom T, Nasman B, Ahlstrom R, Nyberg L (2002). Memory functions and rCBF (99m)Tc-HMPAO SPET: developing diagnostics in Alzheimer's disease. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*;29(9):1140-1148
- Elliott PJ, Garofalo L, Cuellar AC (1989). Limited neocortical devascularizing lesions causing deficits in memory retention and choline acetyltransferase activity--effects of the monosialoganglioside GM1. *Neuroscience*;31(1):63-76
- Ely JT (2001). Mercury induced Alzheimer's disease: accelerating incidence? *Bulletin of environmental contamination and toxicology*;67(6):800-806
- Ercal N, Gurer-Orhan H, Aykin-Burns N (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current topics in medicinal chemistry*;1(6):529-539
- Esclaire F, Kisby G, Spencer P, Milne J, Lesort M, Hugon J (1999). The Guam cycad toxin methylazoxymethanol damages neuronal DNA and modulates tau mRNA expression and excitotoxicity. *Experimental neurology*;155(1):11-21
- Europese Commissie, 2003. Proposal for a regulation of the European Parliament and of the Council concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency and amending directive 1999/45/EC and Regulation (EC) on Persistent Organic Pollutants. Brussel, 2003.
- Evin G, Weidemann A (2002). Biogenesis and metabolism of Alzheimer's disease A $\beta$  amyloid peptides. *Peptides*;23:1285-1297
- Farkas E, Luiten PG (2001). Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Progress in neurobiology*;64(6):575-611
- Feldman RG (1998a). Exposure to Hazardous Chemicals. In: Feldman RG Occupational and Environmental Neurotoxicology Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers
- Feldman RG (1998b). Aluminium. In: Feldman RG Occupational and Environmental Neurotoxicology Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers
- Feldman RG (1998c). Mercury. In: Feldman RG Occupational and Environmental Neurotoxicology Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers
- Feldman RG (1998d). Lead. In: Feldman RG Occupational and Environmental Neurotoxicology Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers
- Feldman RG (1998e). Manganese. In: Feldman RG Occupational and Environmental Neurotoxicology Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers
- Feldman RG (1998f). Trichloroethylene. In: Feldman RG Occupational and Environmental Neurotoxicology Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers
- Feldman RG (1998g). Xylene. In: Feldman RG Occupational and Environmental Neurotoxicology Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers
- Feldman RG, Hayes MK, Younes R, Aldrich FD (1977). Lead neuropathy in adults and children. *Archives of neurology*;34(8):481-488
- Fleming L, Mann JB, Bean J, Briggles T, Sanchez-Ramos JR (1994). Parkinson's disease and brain levels of organochlorine pesticides. *Annals of neurology*;36(1):100-103
- Floyd RA, Hensley K, Forster MJ, Kelleher-Anderson JA, Wood PL (2002). Nitrones as neuroprotectants and antiaging drugs. *Annals of the New York Academy of Sciences*;959:32132-32139
- Freed DM, Kandel E (1988). Long-term occupational exposure and the diagnosis of dementia. *Neurotoxicology*;9(3):391-400

- Garabrant DH (2000): Epidemiologic principles in the evaluation of suspected neurotoxic disorders. In: Albers JW, Berent S, Vassallo J, Behan S (eds): *Neurologic Clinics*. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 18, nr 3, 631-648
- Geula C, Bu J, Nagykerly N, Scinto LF, Chan J, Joseph J, Parker R, Wu CK (2003). Loss of calbindin-D28k from aging human cholinergic basal forebrain: relation to neuronal loss. *The Journal of comparative neurology*;455(2):249-259
- Gezondheidsraad (2002a). Dementie. Den Haag: Gezondheidsraad; publicatie nr 2002/04
- Gezondheidsraad (2002b). Blootstelling aan combinaties van stoffen: een systematiek voor het beoordelen van gezondheidsrisico's. Den Haag: Gezondheidsraad; publicatie nr 2002/05
- Gorell JM, Checkoway H (2001). Epidemiological Studies: Risk Factors Session IV Summary and Research Needs. *NeuroToxicology*;22:837-844
- Gorman AM, Ceccatelli S, Orrenius S (2000). Role of mitochondria in neuronal apoptosis. *Developmental neuroscience*;22(5-6):348-358
- Grantham C, Geerts H (2002). The rationale behind cholinergic drug treatment for dementia related to cerebrovascular disease. *Journal of the neurological sciences*;203-204:131-136
- Graves AB, Rosner D, Echeverria D, Mortimer JA, Larson EB (1998). Occupational exposures to solvents and aluminium and estimated risk of Alzheimer's disease. *Occupational and environmental medicine*;55(9):627-633
- Harkany T, Abraham I, Konya C, Nyakas C, Zarandi M, Penke B, Luiten PG (2000). Mechanisms of beta-amyloid neurotoxicity: perspectives of pharmacotherapy. *Reviews in the neurosciences*;11(4):329-382
- Harman D. Alzheimer's disease: role of aging in pathogenesis (2002). *Annals of the New York Academy of Sciences*;959:384-95
- Hartman DE (1995a). Pesticides. In: Hartman DE *Neuropsychological toxicity* New York, Plenum Press
- Hartman DE (1995b). Solvents. In: Hartman DE *Neuropsychological toxicity* New York, Plenum Press
- Hartman DE (1995c). Alcohol. In: Hartman DE *Neuropsychological toxicity* New York, Plenum Press
- Hendrie HC (1998). Epidemiology of Dementia and Alzheimer's Disease. *Am J Geriatr Psychiatry*; 6:S3-S18
- Hong Z, Xinding Z, Tianlin Z, Liren C (2001). Excitatory amino acids in cerebrospinal fluid of patients with acute head injuries. *Clinical chemistry*;47(8):1458-1462
- Horn JL, Cattell RB (1996). Age differences in primary mental ability factors. *Journal of gerontology*;21(2):210-220
- Hubble JP, Kurth JH, Glatt SL, Kurth MC, Schellenberg GD, Hassanein RE, Lieberman A, Koller WC (1998). Gene-toxin interaction as a putative risk factor for Parkinson's disease with dementia. *Neuroepidemiology*;17(2):96-104
- Hudnell HK (1999). Effects from environmental Mn exposures: a review of the evidence from non-occupational exposure studies. *Neurotoxicology*;20(2-3):379-397
- Hulette CM, Welsh-Bohmer KA, Murray MG, Saunders AM, Mash DC, McIntyre LM (1998). Neuropathological and neuropsychological changes in "normal" aging: evidence for preclinical Alzheimer disease in cognitively normal individuals. *Journal of neuropathology and experimental neurology*;57(12):1168-74

- Ikegaya Y, Matsuura S, Ueno S, Baba A, Yamada MK, Nishiyama N, Matsuki N (2002). Beta-amyloid enhances glial glutamate uptake activity and attenuates synaptic efficacy. *The Journal of biological chemistry*;277(35):32180-32186
- Iregren A (1999). Manganese neurotoxicity in industrial exposures: proof of effects, critical exposure level, and sensitive tests. *Neurotoxicology*;20(2-3):315-323
- Jellinger KA (2002). Alzheimer disease and cerebrovascular pathology: an update. *Journal of neural transmission*;109:813-836
- Jellinger KA, Paulus W, Wrocklage C, Litvan I (2001). Traumatic brain injury as a risk factor for Alzheimer disease. Comparison of two retrospective autopsy cohorts with evaluation of ApoE genotype. *BMC Neurology*;1:3
- Jiang CH, Tsien JZ, Schultz PG, Hu Y (2001). The effects of aging on gene expression in the hypothalamus and cortex of mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*; 98(4):1930-1934
- Jones SK, Nee LE, Sweet L, Polinsky RJ, Bartlett JD, Bradley WG, Robison SH (1989). Decreased DNA repair in familial Alzheimer's disease. *Mutation research*;219(4):247-255
- Joseph JA, Denisova N, Fisher D, Shukitt-Hale B, Bickford P, Prior R, Cao G (1998): Age-related neurodegeneration and oxidative stress. In: Riggs JE, Vassallo J, Varrone K (eds): *Neurologic Clinics*. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 16, nr 3, 747-755
- Kagan BL, Hirakura Y, Azimov R, Azimova R, Lin M (2002). The channel hypothesis of Alzheimer's disease: current status. *Peptides*;23:1311-1315
- Kawahara M, Kato M, Kuroda Y (2001). Effects of aluminum on the neurotoxicity of primary cultured neurons and on the aggregation of b-amyloid protein. *Brain Research Bulletin*;55(2):211-217
- Kilburn KH (1998a). Pervasiveness of Impaired Brains: Implications from "Controls" being abnormal. In: Kilburn KH *Chemical Brain Injury* Van Nostrand Reinhold, New York
- Kilburn KH (1998b). Mechanisms of brain damage from chemicals. In: Kilburn KH *Chemical Brain Injury* Van Nostrand Reinhold, New York
- Kilburn KH (1998c). Methods for measuring neurobehavioral function. In: Kilburn KH *Chemical Brain Injury* Van Nostrand Reinhold, New York
- Kingman A, Albertini T, Brown LJ (1998). Mercury concentrations in urine and whole blood associated with amalgam exposure in a US military population. *Journal of dental research*;77(3):461-471
- Kisby GE, Kabel H, Hugon J, Spencer P (1999). Damage and repair of nerve cell DNA in toxic stress. *Drug metabolism reviews*;31(3):589-618
- Kukull WA, Ganguli M (2000). Epidemiology of dementia. In: DeKosky ST, Vassallo J, Pinto C (eds): *Neurologic Clinics* Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 18, nr 4, 923-949
- Landsberg JP, McDonald B, Watt F (1992). Absence of aluminium in neuritic plaque cores in Alzheimer's disease. *Nature* 5;360(6399):65-68
- Lawrence E (1999). *Henderson's dictionary of biological terms*. Addison Wesley Longman Limited, Harlow
- Lee J, Cole TB, Palmiter RD, Suh SW, Koh J (2002). Contribution by synaptic zinc to the gender-disparate plaque formation in human Swedish mutant APP transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*;99(11):7705-7710
- Lee Y, Chong MJ, McKinnon PJ (2001). Ataxia telangiectasia mutated-dependent apoptosis after genotoxic stress in the developing nervous system is determined by cellular differentiation status. *The Journal of neuroscience* 1;21(17):6687-6693



- Leong CC, Syed NI, Lorscheider FL (2001). Retrograde degeneration of neurite membrane structural integrity of nerve growth cones following in-vitro exposure to mercury. *Neuroreport* 26;12(4):733-737
- Liu B, Gao HM, Wang JY, Jeohn GH, Cooper CL, Hong JS (2002). Role of nitric oxide in inflammation-mediated neurodegeneration. *Annals of the New York Academy of Sciences*;962:318-331
- Lobo A, Launer LJ, Fratiglioni L, Andersen K, Di Carlo A, Breteler MM, Copeland JR, Dartigues JF, Jagger C, Martinez-Lage J, Soininen H, Hofman A (2000). Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. Neurology*;54(11 Suppl 5):S4-9
- Maccioni RB, Munoz JP, Barbeito L (2001). The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Archives of medical research*;32(5):367-381
- Mantyh PW, Ghilardi JR, Rogers S, DeMaster E, Allen CJ, Stimson ER, Maggio JE (1993). Aluminum, iron, and zinc ions promote aggregation of physiological concentrations of beta-amyloid peptide. *Journal of neurochemistry*;61(3):1171-1174
- Martyn CN (1992). The epidemiology of Alzheimer's disease in relation to aluminium. *Ciba Foundation symposium*;169:69-79
- Martyn CN, Singh S, Wood PJ (1989). Calcium metabolism in Alzheimer's disease. *Gerontology*;35(2-3):153-157
- Mathis CA, Bacskai BJ, Kajdasz ST, McLellan ME, Frosch MP, Hyman BT, Holt DP, Wang Y, Huang GF, Debnath ML, Klunk WE (2002). A lipophilic thioflavin-T derivative for positron emission tomography (PET) imaging of amyloid in brain. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* 11;12(3):295-298
- McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, Thiffault C, Langston JW, Cory-Slechta DA, Di Monte DA (2002). Environmental risk factors and Parkinson's disease: selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat. *Neurobiology of disease*;10(2):119-127
- McGeer EG, McGeer PL (1998). The importance of inflammatory mechanisms in Alzheimer disease. *Experimental gerontology*;33(5):371-378
- McKeith IG, Burn D (2000): Spectrum of Parkinson's disease, Parkinson's dementia, and Lewy body dementia. In: DeKosky ST, Vassallo J, Pinto C (eds): *Neurologic Clinics*. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 18, nr 4, 865-883
- Melo JB, Agostinho P, Oliveira CR (2003). Involvement of oxidative stress in the enhancement of acetylcholinesterase activity induced by amyloid beta-peptide. *Journal of neuroscience research*;45(1):117-127
- Mergler D (1999). Neurotoxic effects of low level exposure to manganese in human populations. *Environmental research*;80(2 Pt 1):99-102
- Migliore L, Coppede F (2002). Genetic and environmental factors in cancer and neurodegenerative diseases. *Mutation research*;512(2-3):135-153
- Ministerraad (2001). *Strategienota Omgaan Met Stoffen*.37331
- Miranda S, Opazo C, Larrondo LF, Munoz FJ, Ruiz F, Leighton F, Inestrosa NC (2000). The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid b-peptide in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology*;62:633-648
- Morris JC (2000): The nosology of dementia. In: DeKosky ST, Vassallo J, Pinto C (eds): *Neurologic Clinics*. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 18, nr 4, 773-788

- Mukherjee P, Pasinetti GM (2000). The role of complement anaphylatoxin C5a in neurodegeneration: implications in Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmunology*;105:124-130
- Multhaup G, Scheuermann S, Schlicksupp A, Simons A, Strauss M, Kemmling A, Oehler C, Cappai R, Pipkorn R, Bayer TA (2002). Possible mechanisms of app-mediated oxidative stress in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology & Medicine*; 33(1):45–51
- Nayak P (2002). Aluminum: impacts and disease. *Environ Res*;89(2):101-115
- National Center for Health Statistics (NCHS) Vital and Health Statistics (1996), Series 20, No. 28, February 29, 1996
- Niklowitz WJ, Mandybur TI (1975). Neurofibrillary changes following childhood lead encephalopathy. *Journal of neuropathology and experimental neurology*;34(5):445-455
- Nordberg M, Winblad B, Fratiglioni L, Basun H (2000). Lead concentrations in elderly urban people related to blood pressure and mental performance: results from a population-based study. *American journal of industrial medicine*;38(3):290-294
- Obata T (2002). Role of hydroxyl radical formation in neurotoxicity as revealed by in-vivo free radical trapping. *Toxicology Letters*;132:83-93
- O'Flynn RR, Monkman SM, Waldron HA (1987). Organic solvents and presenile dementia: a case referent study using death certificates. *British journal of industrial medicine*;44(4):259-262
- Olanow CW, Good PF, Shinotoh H, Hewitt KA, Vingerhoets F, Snow BJ, Beal MF, Calne DB, Perl DP (1996). Manganese intoxication in the rhesus monkey: a clinical, imaging, pathologic, and biochemical study. *Neurology*;46(2):492-498
- Olivieri G, Brack C, Muller-Spahn F, Stahelin HB, Herrmann M, Renard P, Brockhaus M, Hock C (2000). Mercury induces cell cytotoxicity and oxidative stress and increases beta-amyloid secretion and tau phosphorylation in SHSY5Y neuroblastoma cells. *Journal of neurochemistry*;74(1):231-236
- Opazo C, Huang X, Cherny RA, Moir RD, Roher AE, White AR, Cappai R, Masters CL, Tanzi RE, Inestrosa NC, Bush AI (2002). Metalloenzyme-like activity of Alzheimer's disease beta-amyloid: Cu-dependent catalytic conversion of dopamine, cholesterol and biological reducing agents to neurotoxic H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *The Journal of biological chemistry*;277(43):40302-40308
- Overstreet DH (2000). Organophosphate pesticides, cholinergic function and cognitive performance in advanced age. *Neurotoxicology*;21(1-2):75-81
- Ozcankaya R, Delibas N (2002). Malondialdehyde, Superoxide Dismutase, Melatonin, Iron, Copper, and Zinc Blood Concentrations in Patients with Alzheimer Disease: Cross-sectional Study. *Croatian medical journal* 43(1):28-32
- Palmer K, Inskip H, Martyn C, Coggon D (1998). Dementia and occupational exposure to organic solvents. *Occupational and environmental medicine*;55(10):712-715
- Pan W, Solomon B, Maness LM, Kastin AJ (2002). Antibodies to beta-Amyloid Decrease the Blood-to-Brain Transfer of beta-Amyloid Peptide. *Experimental biology and medicine*;227(8):609-615
- Parbhu A, Lin H, Thimm J, Lal R (2002). Imaging real-time aggregation of amyloid beta protein (1–42) by atomic force microscopy. *Peptides*;23:1265–1270
- Parmar P, Limson J, Nyokong T, Daya S (2002). Melatonin protects against copper-mediated free radical damage. *Journal of Pineal Research*; 32:237-242
- Pendergrass JC, Haley BE, Vimy MJ, Winfield SA, Lorscheider FL (1997). Mercury vapor inhalation inhibits binding of GTP to tubulin in rat brain: similarity to a molecular lesion in Alzheimer diseased brain. *Neurotoxicology*;18(2):315-324

Perl DP (2000): Neuropathology of Alzheimer's disease and related disorders. In: DeKosky ST, Vassallo J, Pinto C (eds): Neurologic Clinics. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 18, nr 4, 847-864

Perl DP, Gajdusek DC, Garruto RM, Yanagihara RT, Gibbs CJ (1982). Intraneuronal aluminum accumulation in amyotrophic lateral sclerosis and Parkinsonism-dementia of Guam. *Science*;217(4564):1053-1055

Perl DP, Olanow CW, Calne D (1998). Alzheimer's disease and Parkinson's disease: distinct entities or extremes of a spectrum of neurodegeneration? *Annals of neurology*;44(3 Suppl 1):S19-S31.

Perl DP, Pendlebury WW (1986). Aluminum neurotoxicity - potential role in the pathogenesis of neurofibrillary tangle formation. *The Canadian journal of neurological sciences*;13(4 Suppl):441-445

Perry G, Nunomura A, Hirai K, Zhu X, Prez M, Avila J, Castellani RJ, Atwood CS, Aliev G, Sayre LM, Takeda A, Smith MA (2002). Is oxidative damage the fundamental pathogenic mechanism of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases? *Free radical biology & medicine*;33(11):1475-1479

Petersen RC (2000): Aging, mild cognitive impairment, and alzheimer's disease. In: DeKosky ST, Vassallo J, Pinto C (eds): Neurologic Clinics. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 18, nr 4, 789-805

Plato CC, Galasko D, Garruto RM, Plato M, Gamst A, Craig UK, Torres JM, Wiederholt W (2002). ALS and PDC of Guam: forty-year follow-up. *Neurology* 12;58(5):765-773

Pratico D, Uryu K, Sung S, Tang S, Trojanowski JQ, Lee VM (2002). Aluminum modulates brain amyloidosis through oxidative stress in APP transgenic mice. *The FASEB Journal*;16(9):1138-1140

Prince M (1998). Is chronic low-level lead exposure in early life an etiologic factor in Alzheimer's disease? *Epidemiology*;9(6):618-621

Rasmussen K, Gilkou T (1991). [Deens] Health surveillance of workers exposed to lead in the County of Aarhus. *Ugeskr Laeger* 1;153(14):975-978

Rifat SL, Eastwood MR, McLachlan DR et al (1990). Effect of exposure of miners to aluminium powder. *Lancet*; 336: 1162-1165

Riggs JE (1998a): The aging population: implications for the burden of neurologic disease. In: Riggs JE, Vassallo J, Varrone K (eds): Neurologic Clinics. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 16, nr 3, 555-560

Riggs JE (1998b): Aging, increasing genomic entropy, and neurodegenerative disease. In: Riggs JE, Vassallo J, Varrone K (eds): Neurologic Clinics. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 16, nr 3, 757-770

Ripatti S, Gatz M, Pedersen NL, Palmgren J (2003). Three-state frailty model for age at onset of dementia and death in Swedish twins. *Genetic epidemiology*;24(2):139-149

Rizzu P, van Swieten JC, Joosse M, Hasegawa M, Stevens M, Tibben A, Niermeijer MF, Hillebrand M, Ravid R, Oostra BA, Goedert M, van Duijn CM, Heutink P (1999). High prevalence of mutations in the microtubule-associated protein tau in a population study of Fronto-temporal Dementia in the Netherlands. *American journal of human genetics*;64:414-421

Rottkamp CA, Atwood CS, Joseph JA, Nunomurac A, Perry G, Smith MA (2002). The state versus amyloid- $\beta$ : the trial of the most wanted criminal in Alzheimer disease. *Peptides*;23:1333-1341

RPA/ BRE Environment, 2003. The impact of the new chemicals policy on health and the environment. Final Report – June 2003, prepared for European Commission – Environment

- Directorate-General. Loddon/ Watford. Look up European Union chemicals policy page  
<http://europa.eu.int/comm/enterprise/chemicals/>
- Santiard-Baron D, Lacoste A, Ellouk-Achard S, Soulie C, Nicole A, Sarasin A, Ceballos-Picot I (2001). The amyloid peptide induces early genotoxic damage in human preneuron NT2. *Mutation research* 479(1-2):113-120
- Sastry PS, Rao KS (2000). Apoptosis and the Nervous System. *Journal of Neurochemistry*;74(1):1-20
- Savolainen KM, Loikkanen J, Eerikainen S, Naarala J (1998). Interactions of excitatory neurotransmitters and xenobiotics in excitotoxicity and oxidative stress: glutamate and lead. *Toxicol Lett* 28;102-103:363-367
- Scale , 2003a. Baseline Report on Respiratory Health in the framework of the European Environment and Health Strategy (COM(2003)338 final). Europese Commissie, Brussel, ook [www.environmentandhealth.org](http://www.environmentandhealth.org)
- Scale, 2003b. Draft Baseline Report on "Integrated Monitoring of Heavy Metals" in the framework of the European Environment and Health Strategy (COM (2003)338 final). Europese Commissie, Brussel, ook [www.environmentandhealth.org](http://www.environmentandhealth.org)
- Scale, 2003c. Draft Baseline Report on "Integrated Monitoring of Endocrine Disruptors" in the framework of the European Environment and Health Strategy (COM(2003)338 final), Europese Commissie, Brussel, ook [www.environmentandhealth.org](http://www.environmentandhealth.org)
- Scale, 2003d.. Draft Baseline Report on "Integrated Monitoring of dioxins & PCBs in the Baltic Region" in the framework of the European Environment and Health Strategy (COM(2003)338 final). Europese Commissie, Brussel, ook [www.environmentandhealth.org](http://www.environmentandhealth.org)
- Scale, 2003e. Draft Baseline Report on Childhood Cancer in the framework of the European Environment and Health Strategy (COM(2003)338 final). Europese Commissie, Brussel, ook [www.environmentandhealth.org](http://www.environmentandhealth.org)
- Schmidt R, Schmidt H, Curb JD, Masaki K, White LR, Launer LJ (2002). Early inflammation and dementia: a 25-year follow-up of the Honolulu-Asia Aging Study. *Annals of neurology*;52(2):168-174
- Schnellmann RG, Kelly KJ (1999): Pathophysiology of nephrotoxic acute renal failure. In: Schrier RW (ed): *Atlas of Diseases of the Kidney*. Philadelphia, Current Medicine, Vol 1
- Schochet SS Jr (1998): Neuropathology of aging. In: Riggs JE, Vassallo J, Varrone K (eds): *Neurologic Clinics*. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 16, nr 3, 569-580
- Schuurs AH, de Wolff FA (1997). Relation between mercury and Alzheimer's disease? *Nederlands tijdschrift voor tandheelkunde*;104(6):219-22
- Selkoe DJ (2000): The genetics and molecular pathology of Alzheimer's disease. In: DeKosky ST, Vassallo J, Pinto C (eds): *Neurologic Clinics*. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 18, nr 4, 903-921
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, D'Agostino RB, Wilson PW, Wolf PA (2002). Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *The New England journal of medicine* 346(7):476-483
- Sherer TB, Betarbet R, Greenamyre JT (2002). Environment, mitochondria, and Parkinson's disease. *Neuroscientist*;8(3):192-197
- Sherer TB, Betarbet R, Greenamyre JT (2002). Environment, mitochondria, and Parkinson's disease. *Neuroscientist*;8(3):192-197
- Shibayama H, Kitoh J, Marui Y, Kobayashi H, Iwase S, Kayukawa Y (1983). An unusual case of Pick's disease. *Acta neuropathologica*;59(2):79-87

- Spencer PS (2000). Biological principles of chemical neurotoxicity. In: Spencer PS, Schaumburg HH, Ludolph AC (eds) *Experimental and Clinical Neurotoxicology*. Oxford University Press, New York
- Spencer PS, Ludolph AC, Kisby GE (1992). Are human neurodegenerative disorders linked to environmental chemicals with excitotoxic properties? *Annals of the New York Academy of Sciences* 11;648:154-160
- Stiles J (2000). Neural plasticity and cognitive development. *Developmental neuropsychology*;18(2):237-272
- Stokes AH, Hastings TG, Vrana KE (1999). Cytotoxic and genotoxic potential of dopamine. *Journal of neuroscience research* 15;55(6):659-665
- Thompson CM, Markesbery WR, Ehmann WD, Mao YX, Vance DE (1988). Regional brain trace-element studies in Alzheimer's disease. *Neurotoxicology*;9(1):1-7
- Toescu EC, Verkhratsky A (2000). Parameters of calcium homeostasis in normal neuronal ageing. *Journal of anatomy*;197(4):563-569
- Tomei LD, Kanter P, Wenner CE (1988): Inhibition of radiation-induced apoptosis in-vitro by tumor promoters. *Biochemical and biophysical research communications*;155(1):324-331
- Tomei LD, Umansky SR (1998): Aging and apoptosis control. In: Riggs JE, Vassallo J, Varrone K (eds): *Neurologic Clinics*. Philadelphia, WB Saunders Company, Vol 16, nr 3, 735-745
- Tran MH, Yamada K, Nabeshima T (2002). Amyloid  $\beta$ -peptide induces cholinergic dysfunction and cognitive deficits: a minireview. *Peptides*;23;1271-1283
- Triebig G, Hallermann J (2001). Survey of solvent related chronic encephalopathy as an occupational disease in European countries. *Occupational and environmental medicine*;58(9):575-581
- Uversky VN, Li J, Fink AL (2001). Metal-triggered structural transformations, aggregation, and fibrillation of human alpha-synuclein: a possible molecular link between Parkinson's disease and heavy metal exposure. *The Journal of biological chemistry* 23;276(47):44284-44296
- van der Hoek JA, Verberk MM, van der Laan G, Hageman G (2001). Solvent-induced chronic encephalopathy; the 'solvent team' project. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde* 10;145(6):256-260
- Versijpt J, Van Laere K, Dierckx RA, Dumont F, De Deyn PP, Slegers G, Korf J (2003). Scintigraphic visualization of inflammation in neurodegenerative disorders. *Nuclear medicine communications*;24(2):209-221
- Walker LC, Callahan MJ, Bian F, Durhama RA, Roher AE, Lipinski WJ (2002). Exogenous induction of cerebral  $\beta$ -amyloidosis in  $\beta$ APP-transgenic mice. *Peptides*;23:1241-1247
- Wang Y, Klunk WE, Huang GF, Debnath ML, Holt DP, Mathis CA (2002). Synthesis and evaluation of 2-(3'-iodo-4'-aminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole for in-vivo quantitation of amyloid deposits in Alzheimer's disease. *Journal of molecular neuroscience*;19(1-2):11-16
- Waterman SJ, el-Fawal HA, Snyder CA (1994). Lead alters the immunogenicity of two neural proteins: a potential mechanism for the progression of lead-induced neurotoxicity. *Environmental health perspectives*;102:1052-1056.
- Weiss B (1994). Low-level chemical sensitivity: a perspective from behavioral toxicology. *Toxicology and industrial health*;10(4-5):605-617
- Weiss B (2000). Vulnerability to pesticide neurotoxicity is a lifetime issue. *Neurotoxicology*; 21(1-2):67-73
- Yamada K, Tanaka T, Han D, Senzaki K, Kameyama T, Nabeshima T (1999). Protective effects of idebenone and  $\beta$ -tocopherol on  $\beta$ -amyloid1-42 induced learning and memory deficits in rats:

implication of oxidative stress in  $\beta$ -amyloid-induced neurotoxicity in-vivo. The European journal of neuroscience;11:83–90

Yamaizumi M, Mekada E, Uchida T, Okada Y (1978). One molecule of diphtheria toxin fragment A introduced into a cell can kill the cell. Cell;15(1):245-250

Yao ZX, Drieu K, Szveda LI, Papadopoulos V (1999). Free radicals and lipid peroxidation do not mediate beta-amyloid-induced neuronal cell death. Brain Research;847(2):203-210

Yun SW, Hoyer S (2000). Effects of low-level lead on glycolytic enzymes and pyruvate dehydrogenase of rat brain in-vitro: relevance to sporadic Alzheimer's disease? Journal of neural transmission;107(3):355-368.

Zheng W (2001). Neurotoxicology of the brain barrier system: new implications. Journal of toxicology, Clinical toxicology;39(7):711-719

Zhu YJ, Lin H, Lal R (2000). Fresh and non-fibrillar amyloid beta protein (1–40) induces rapid cellular degeneration in aged human fibroblasts: evidence for A $\beta$  P-channel-mediated cellular toxicity. The FASEB Journal;14:1244–1254

Zuccala G, Onder G, Pedone C, Cesari M, Landi F, Bernabei R, Cocchi A (2001). Dose-related impact of alcohol consumption on cognitive function in advanced age: results of a multicenter survey. Alcoholism, clinical and experimental research;25(12):1743-1748

Zuo P, Luo P, Liu Y (2002). Cholinergic receptor activity after quinolinic acid caused cerebral injury in rats. Chinese medical journal;115(8):1175-1178